ORSAY
Série A, N°
N° D'ordre

1136

THESE

PRÉSENTÉE À

L'UNIVERSITÉ DE PARIS-SUD
CENTRE D'ORSAY

pour obtenir

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES PHYSIQUES

par

Jean BRUNETON

-Alcaloïdes de divers *Ochrosia* de Nouvelle Calédonie (Apocynacées).

-Alcaloïdes du *Crioceras dipladeniiflorus* (Stapf) K. Schumann (Apocynacées).

Soutenue le 28 JUIN 1973 devant la Commission d'Examen

MM.	M. FÉTIZON	Président
	J. POISSON	Examinateurs
	P. POTIER	
	J. LÉVY	

THESE

PRÉSENTÉE À

L'UNIVERSITÉ DE PARIS-SUD
CENTRE D'ORSAY

pour obtenir

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES PHYSIQUES

par

Jean BRUNETON

- Alcaloïdes de divers Ochrosia de Nouvelle Calédonie (Apocynacées).

- Alcaloïdes du Crioceras dipladeniiflorus (Stapf) K. Schumann (Apocynacées).

Soutenue le 28 JUIN 1973 devant la Commission d'Examen

MM.	M. FÉTIZON	Président
	J. POISSON	Examinateurs
	P. POTIER	
	J. LÉVY	

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A MONSIEUR MARCEL FÉTIZON

Professeur à la Faculté des Sciences d'Orsay

qui m'a fait l'honneur de présider

le jury de cette thèse

A MONSIEUR JACQUES POISSON

Professeur au Centre d'Etudes Pharmaceutiques de Chatenay Malabry

A MONSIEUR PIERRE POTIER

Directeur de Recherches au Centre National de la Recherche Scientifique

A MONSIEUR JEAN LÉVY

Professeur à la Faculté de Pharmacie de Reims

qui ont accepté de juger ce travail

En hommage de respectueuse gratitude.

A MONSIEUR ANDRÉ CAVÉ

Professeur au Centre d'études Pharmaceutiques de Chatenay Malabry

qui m'a confié le sujet de ce travail
et m'a toujours dirigé avec beaucoup
de bienveillance

En hommage de profonde reconnaissance
et de respectueux attachement.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548021_0025

A MONSIEUR RENÉ RAYMOND PARIS

Professeur à la Faculté de Pharmacie de Paris

qui a suivi la réalisation de mon travail
avec intérêt et bienveillance

En hommage de très vive reconnaissance

A MONSIEUR ADRIEN CAVÉ

Chargé de Recherches au Centre National de la Recherche Scientifique

qui n'a cessé de me faire profiter de
sa grande expérience en résonance
magnétique nucléaire

En témoignage de profonde et respectueuse gratitude.

A MA FEMME

dont la compréhension et les encouragements m'ont beaucoup aidé.

A MES PARENTS

en témoignage de reconnaissance et de profonde affection

A MA FAMILLE

A MES AMIS

Avant de commencer cet exposé, je tiens à remercier:

- La Ligue Nationale Française de Recherche contre le Cancer;
- Messieurs A. BOUQUET, J.P. JEANNIOT et T. SEVENET pour la récolte et la fourniture du matériel végétal;
- Messieurs P. BOITEAU, M. CORBASSON et M. SCHMID pour leur aide dans l'identification des échantillons récoltés;
- Monsieur A. ESCAULT et le Laboratoire d'extraction de l'I.C.S.N. pour certaines extractions;
- Monsieur G. LUKACS pour son aide précieuse lors des expériences de RMN du ^{13}C;
- Monsieur P. BLADON pour le spectre de masse à haute résolution de la criophylline;
- Messieurs B.C. DAS et J.P. COSSON et le service de spectrométrie de masse de l'I.C.S.N.;
- Madame A. KORNPROBST pour la réalisation des spectres de RMN;
- Le service de microanalyse du C.N.R.S.;

- Mesdames C. KAN FAN, N. KUNESCH, N. PREAUX et H. MOYSE
- Messieurs DAT XUONG, H.P. HUSSON, M. KOCH, M. LEBOEUF, M. PLAT, J.L.POUSSET et A. RABARON

qui a des titres divers m'ont aidé dans ces recherches

- Tous mes camarades du Laboratoire de Matière Médicale et plus particulièrement Monsieur R. HOCQUEMILLER.

INTRODUCTION

L'étude des alcaloïdes retient depuis longtemps l'intérêt des pharmaciens: d'une part ils sont doués, le plus souvent, de propriétés thérapeutiques intéressantes, d'autre part ils constituent un substrat de choix pour la Chimie Organique et le développement des méthodes physiques de détermination de structure.

C'est pour ces raisons que depuis de nombreuses années Monsieur le Professeur M.-M. JANOT et ses élèves ont exploré le domaine des alcaloïdes - et notamment celui des alcaloïdes indoliques - domaine qui reste l'un des plus féconds de la Chimie des Substances Naturelles.

Le travail qui fait l'objet de cette thèse, et dont la réalisation a été effectuée sous la direction de Monsieur le Professeur A. CAVÉ, comporte d'une part une contribution à l'étude systématique du genre *Ochrosia* (Apocynacées), d'autre part l'étude de la composition alcaloïdique d'une Apocynacée non encore étudiée: le *Crioceras dipladeniiflorus* (Stapf) K. Schumann.

Cette étude a conduit à l'isolement de douze alcaloïdes indoliques nouveaux, la détermination de leur structure fait l'objet de ce travail.

☆ ☆

Le plan adopté pour la présentation de ce travail est le suivant:

PREMIERE PARTIE

ALCALOIDES DE DIVERS OCHROSIA DE NOUVELLE CALEDONIE (APOCYNACEES)

Chapitre I GENERALITES SUR LE GENRE OCHROSIA

Chapitre II EXPOSE DES TRAVAUX ANTERIEURS

Chapitre III TRAVAUX PERSONNELS: ALCALOIDES DES O. BALANSAE, MULSANTI, CONFUSA, SEVENETI, BREVITUBA et SILVATICA.

Isolement des alcaloïdes

A) OCHROSIA BALANSAE Baill. ex Guill.

FEUILLES

Isolement des alcaloïdes

diméthoxy-IO,II picraphylline: extraction, étude spectrale, configuration, hémisynthèse.

dihydro-I,2 ellipticine

méthoxy-9 dihydro I,2 ellipticine

tétrahydro-I,2,3,4 ellipticine

méthoxy-9 tétrahydro-I,2,3,4 ellipticine.

ECORCES

B) OCHROSIA MULSANTI Montr..

N-oxy ellipticine

C) OCHROSIA CONFUSA Pichon.

D) OCHROSIA SEVENETI et OCHROSIA BREVITUBA Boiteau.

E) OCHROSIA SILVATICA Dän.

Chapitre IV CHIMIOTAXINOMIE DU GENRE OCHROSIA

CONCLUSION.

DEUXIEME PARTIE

ALCALOIDES DU CRIOCERAS DIPLADENIIFLORUS (STAPF) K. Schumann

Chapitre I	GENERALITES
	TRAVAUX PERSONNELS
Chapitre II	ECORCES DE RACINES
	Isolement et détermination de la structure des alcaloïdes
	Δ14-vincamine
	épi-16 Δ 14 vincamine
	apo Δ 14-vincamine
	méthoxy-12 Δ 14-vincamine
	ditabersonine
Chapitre III	FEUILLES
	méthoxy - 12 voaphylline: isolement, structure
	criophylline
Chapitre IV	TIGES
Chapitre V	GRAINES
Chapitre VI	VARIATIONS SAISONNIERES, RACES CHIMIQUES
	remarques biogénétiques.

CONCLUSION

BIBLIOGRAPHIE.

* *

PREMIÈRE PARTIE

ALCALOÏDES DE DIVERS *OCHROSIA*

DE NOUVELLE CALÉDONIE,

APOCYNACÉES

Chapitre I

Généralités sur le genre *Ochrosia*.

Le genre *Ochrosia* appartient à la famille des Apocynacées, il est classé dans la sous famille des Plumiéroïdées où se trouve la quasi totalité des espèces à alcaloïdes indoliques; il est placé dans la tribu des Rauwolfiées. Créé par JUSSIEU (I) en 1789 il présente - d'après PICHON - une remarquable homogénéité et doit constituer à lui seul la sous tribu des Ochrosiinées. Il est représenté par une quarantaine d'espèces croissant dans les iles de l'océan Pacifique et de l'océan Indien, notamment en Nouvelle Calédonie.

La systématique du genre a été difficile à établir: KOIDZUMI (2) se fondant sur les caractères du fruit dédoublait le genre *Ochrosia* en deux genres nouveaux:

- genre *Lactaria*, à endocarpe plein, projetant des excroissances dans le mésocarpe,
- genre *Bleekeria*, à endocarpe lisse creusé de cavités latérales.

MARKGRAF (3) réserve le nom d'*Ochrosia* aux espèces à endocarpe sans cavités latérales et à mésocarpe fibreux; il nomme *Excavatia* le genre caractérisé par des fruits à endocarpe creusé de cavités et à mésocarpe sans fibres. PICHON (4) considère que l'existence de deux types de fruits, modes différents d'adaptation à la dissémination des semences par l'eau et les courants marins ne met pas en cause l'unité du genre.

C'est la classification donnée par PICHON (5) qui est admise, légèrement modifiée par les travaux récents de quelques auteurs.

Le genre Ochrosia est seul conservé et divisé en trois sections:

- section Lactaria (à fruits excavés)
- section Echinocaryon (à fruits fibreux)
- section Phragmochrosia (intermédiaire entre les deux)

La synonymie pour certaines espèces est si complexe que des confusions multiples en ont résulté. Une révision récente rectifie ces erreurs en ce qui concerne les Ochrosia des Nouvelles Hébrides et de Nouvelle Calédonie (6). Une révision d'ensemble est également en cours aux Etats-Unis par FORSBERG.**

Les Ochrosia sont des arbustes ou des arbres à feuilles opposées ou verticillées, les fleurs, en cymes axillaires ont des sépales libres, sans écailles, une corolle à gorge épaissie à lobes tordus vers la droite; pollen globuleux à trois pores équatoriaux. Mésocarpe épais, endocarpe très épais muni d'un appareil de flottaison formé soit de prolongements dans le mésocarpe, soit de cavités latérales. Les graines sont ailées ou marginées; l'albumen est charnu plus ou moins ferme.

On dénombre onze espèces en Nouvelle Calédonie qui se répartissent comme suit:

- section Lactaria Ochrosia balansae Baill. ex Guill. (7)
O. elliptica Labill., O. mulsanti Montr., (9), O. silvatica*Dän.(10)

- section Echinocaryon Ochrosia bodenheimarum Guill., O. miana Baill. ex Guill., O. brevituba*Boiteau (6), O. seveneti*Boiteau (6) O. oppositifolia Lamk. K. Schum., O. thiollierei Montr., O. confusa PICHON (8).

Six de ces espèces ont été étudiées au cours de ce travail, trois autres étant étudiées parallèlement dans un laboratoire proche du nôtre par N. PEUBE LOCOU.

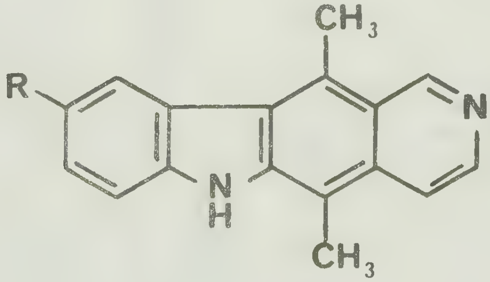
* Ces espèces sont des espèces nouvelles ou des espèces non classées par PICHON; la répartition de ces trois espèces entre les deux sections sera confirmée par leur composition chimique.

** Communication personnelle.

Chapitre II

Exposé des travaux antérieurs

Jusqu'en 1958 aucun travail chimique complet n'est effectué sur le genre Ochrosia. Seule la présence d'alcaloïdes est signalée dans certaines espèces (11). En 1959 GOODWIN (16) isole d'O. elliptica Labill. l'ellipticine 17 et la méthoxy-9 ellipticine 18, alcaloïdes dérivés du 6H-pyrido (4, 3-b) carbazole.



17 R = H
18 R = OCH_3

L'activité antitumorale liée à ces deux alcaloïdes (12, 13) confère à ces végétaux un grand intérêt et à ce jour quinze espèces ont été étudiées. Le tableau I résume les travaux effectués.

Ce tableau comporte les espèces étudiées au cours du travail qui fait l'objet de cette thèse ainsi que celles étudiées simultanément par N. PEUBE LOCOU.

Dans le tableau II se trouvent les structures des alcaloïdes isolés.

TABLEAU I

SECTION I - LACTARIA

ESPECE	ORIGINE GEOGRAPHIQUE	ORGANE ETUDIE	ALCALOIDES	STRUCTURE	REFERENCES
O. maculata Jacq. (= O. borbonica Gmel.)	Mascareignes Seychelles	écorces	Méthoxy-9 ellipticine Réserpine	18 25	(14) (15) (15)
O. elliptica Labill.	Australie Nlle-Calédonie Nlles-Hébrides	feuilles	Ellipticine Elliptinine Méthoxy-9 ellipticine Isoréserpiline	17 18 2	(16)
O. moorei F. Muell. = O. elliptica ?	Australie		Elliptamine Isoréserpiline Ellipticine Méthoxy-9 ellipticine	2 17 18	(17)
O. coccinea. Miq.	Célèbes Moluques	écorces	Ellipticine Méthoxy-9 ellipticine Réserpine	17 18 25	(18) (19)
O. sandwicensis (A.Gray)	Hawaï	écorces (tronc, racines)	Ellipticine Méthoxy-9 ellipticine Holéinine Hunterburnine CH_3^+ Cl^- Ochrosandwine	17 18 6 15 14	(16) (22) (23)

ESPECE	ORIGINE GEOGRAPHIQUE	ORGANE ETUDIE	ALCALOIDES	STRUCTURE	REFERENCES
O. poweri F.M. Bailey	Australie	feuilles	Réserpine Isoréserpiline Powerine Poweramine Poweridine Elliptamine	25 2 26	(17)
	Australie	écorces	Elliptamine Isoréserpiline Ochropamine Ochropine Powerchrine	2 11 10	(24)
O. balansae Guill.	Nlle Calédonie	feuilles	Ellipticine Méthoxy - 9 ellipticine Dihydro-1,2 ellipticine Méthoxy - 9 dihydro -1,2 ellipticine Tétrahydro - 1,2,3,4 ellipticine Méthoxy-9 tétrahydro - 1,2,3,4 ellipticine Réserpiline Isoréserpiline Aricine Diméthoxypicraphylline	17 18 19 20 21 22 3 2 1 7	(27) (28)
		écorces	Ellipticine Isoréserpiline Réserpiline Aricine	17 2 3 1	(29)

SECTION LACTARIA (suite)

ESPECE	ORIGINE GEOGRAPHIQUE	ORGANE ETUDIE	ALCALOIDES	STRUCTURE	REFERENCES
O. vitiensis (Markgraf) Pichon	Fidji	feuilles	Méthoxy - 9 ellipticine Isoréserpiline Isoréserpiline ψ indoxyle	18 2	(25)
		écorces du tronc, bois	Bleckerine Ellipticine Méthoxy-9 ellipticine Isoréserpiline Isoréserpiline ψ indoxyle	31 17 18 2	(26)
		écorces de racines et bois	Ellipticine Méthoxy - 9 ellipticine Isoréserpiline Isoréserpiline ψ indoxyle	17 18 2	(26)
O. mulsanti Montr. = O. vieillardii Guill.	Nlle Calédonie et dépendances	feuilles	Ellipticine Isoréserpiline Méthoxy-10 dihydrocorynanthéol	17 2 12	(20)
		écorces	Ellipticine Dihydroellipticine Tétrahydroellipticine N-oxy ellipticine Diméthoxypicraphylline Réserpiline, isoréserpiline Ochropposinine	17 19 21 23 7 3,2 13	(21)
O. silvatica Dän.	Nlle Calédonie	écorces	Ellipticine Isoréserpiline Apparicine	17 2 16	(39)
		feuilles	Isoréserpiline Ellipticine Méthoxyellipticine	2 17	

TABLEAU I (Suite)

2/ SECTION ECHINOCARYON

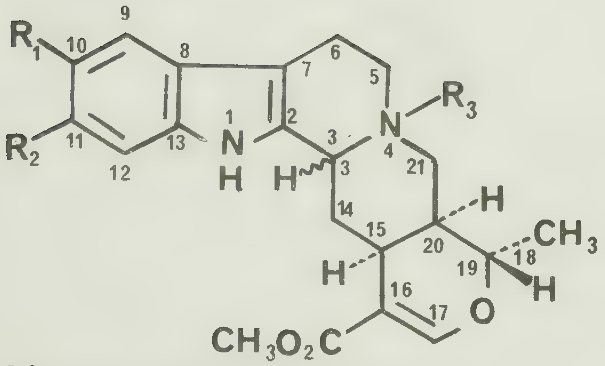
O. glomerata F. Muell.	Nlle Guinée		Ellipticine Méthoxy-9 ellipticine Isoréserpiline Elliptamine	17 18 2	(17)
O. confusa Pichon	Nlle Calédonie	écorces	Ellipticine Carapanaubine Rauvoxine Méthoxy-10 dihydrocorynanthéol Ochrolifuanine A Déhydro-3,4 ochrolifuanine	17 8 9 12 28 a 30	(30)
O. lifuana Guill. (espèce douteuse cf. texte)	Nlle Calédonie	feuilles	Ochrolifuanines A et B Déhydro-3,4 Ochrolifuanine N-oxy ochrolifuanine Descarbométhoxydihydrogambirtannine	28 a et b 30 29 27	(31) (32) (33) (38)
		écorces	Réserpiline Isoréserpiline	3 2	(34)
O. miana H. Bn. ex Guill.	Nlle Calédonie	feuilles	Descarbométhoxydihydrogambirtannine Ochrolifuanines A et B N_b-oxy ochrolifuanine	27 28 a et b 29	(37) (38)

SECTION ECHINOCARYON (suite)

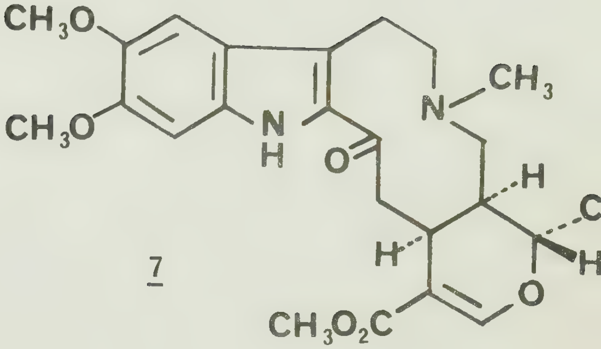
ESPECE	ORIGINE GEOGRAPHIQUE	ORGANE ETUDIE	ALCALOIDES	STRUCTURES	REFERENCES
O. oppositifolia (Lamk.) K. Schumann	Seychelles	écorces	Méthoxy-9 ellipticine	18	(35)
	Nlle Calédonie	écorces	Réserpinine Isoréserpinine Réserpiline Isoréserpiline Méthoxy-10 dihydrocorynanthéol Ochropposine Ochropposinine Ochrolifuanine A	4 5 3 2 12 24 13 28 a	(36) (37)
O. seveneti Boiteau *	Nlle Calédonie	écorces	Ochrolifuanine A	28 a	
		feuilles	Descarbométhoxydihydrogambirtannine	27	
O. brevituba Boiteau *	Nlle Calédonie	feuilles	Ochrolifuanine A Ochrolifuanine B Descarbométhoxydihydrogambirtannine	28 a 28 b 27	

* espèces nouvelles (6)

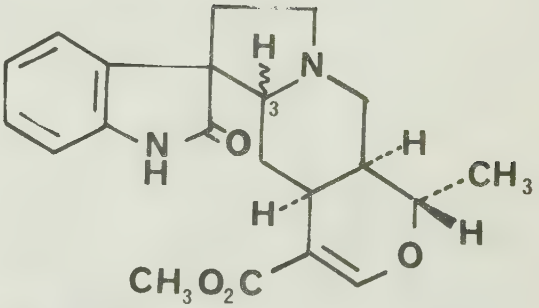
Tableau II



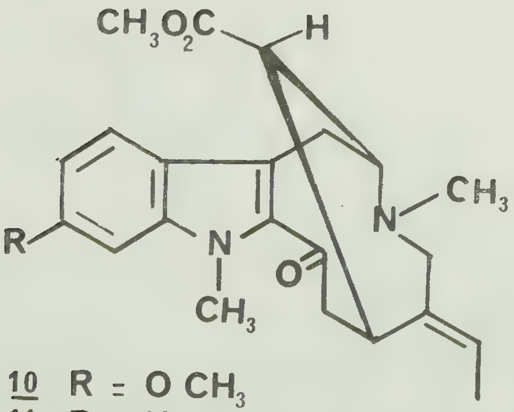
R_1	R_2	R_3	C_3-H	n°
O CH_3	H		α	1
O CH_3	O CH_3		α	2
O CH_3	O CH_3		β	3
H	O CH_3		α	4
H	O CH_3		β	5
O CH_3	O CH_3	$N^{\oplus}_{(B)}$—CH_3	α	6



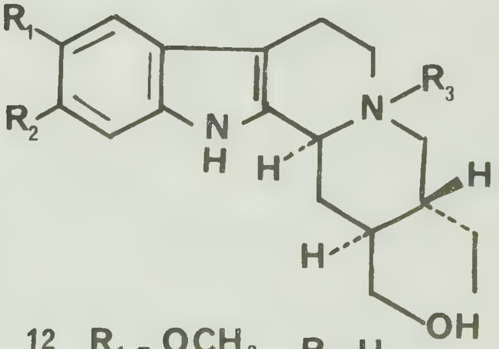
7



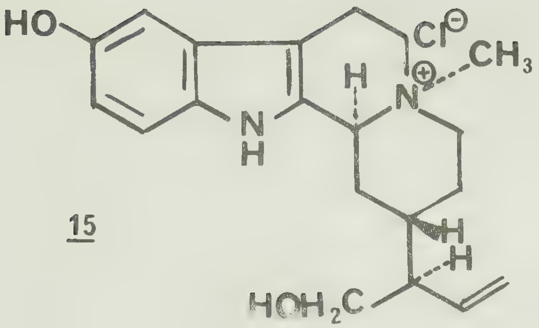
8 ; α C_3-H
9 : β C_3-H



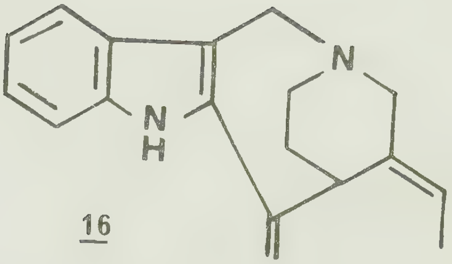
10 R = O CH_3
11 R = H



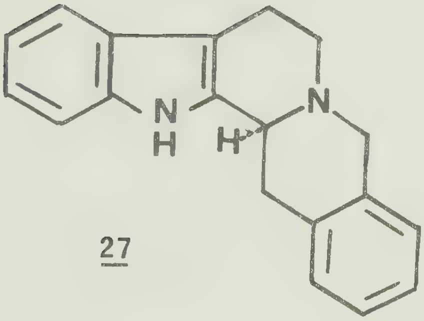
12 R_1 = OCH_3 R_2=H
13 R_1 = OCH_3 = R_2
14 R_1 = OH R_2=H R_3:CH_3 ($N^{\oplus}_{(B)}$



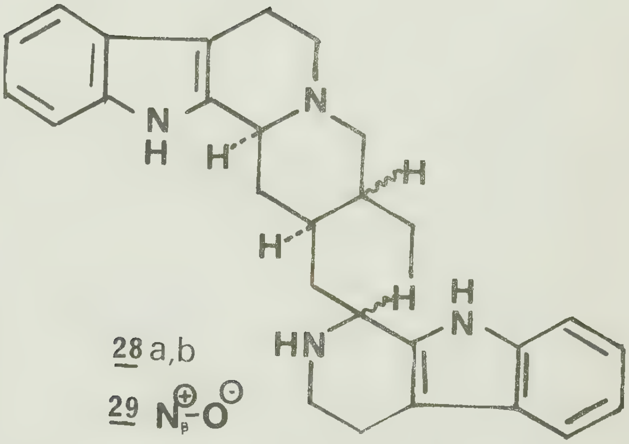
15



16

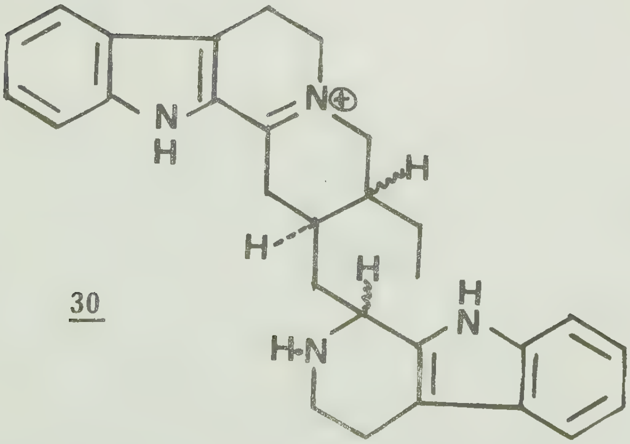


27

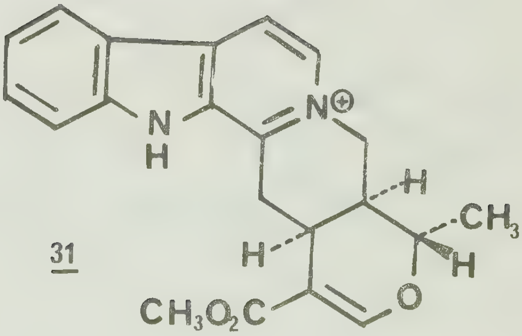


28 a,b

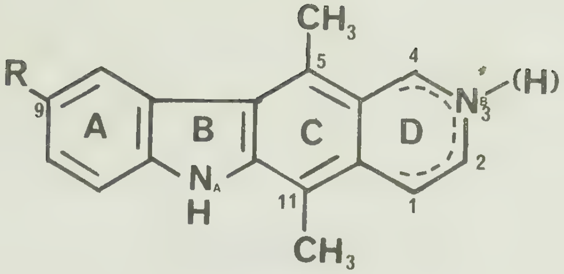
29 $N_{\beta}^{\oplus}$-$O^{\ominus}$

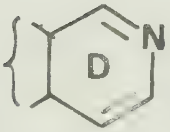


30

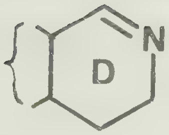


31

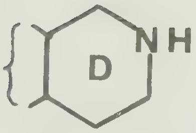




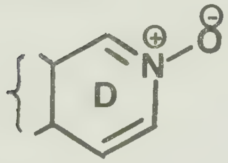
17 R = H
18 R = O CH_3



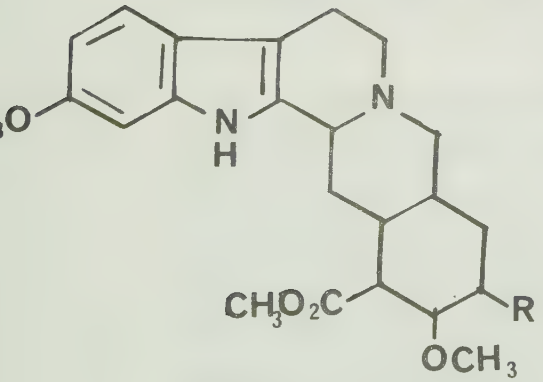
19 R = H
20 R = OCH_3

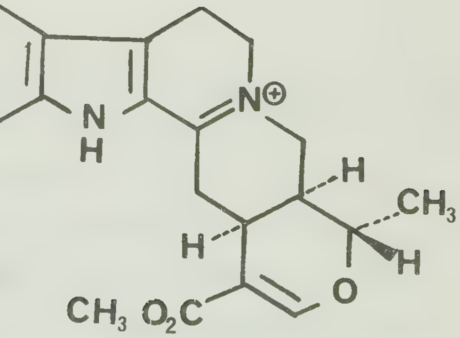


21 R = H
22 R = O CH_3



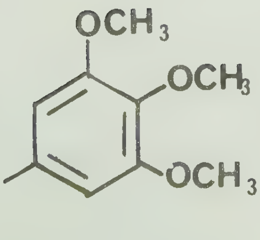
23 R = H





24

25 R =



26 R = H

Chapitre III

Travaux personnels : Alcaloïdes des *Ochrosia* *balansae*, *mulsanti*, *confusa*, *seveneti*, *brevituba* et *silvatica*

ISOLEMENT DES ALCALOIDES.

Pour toutes les espèces étudiées la méthode générale suivante a été mise en oeuvre:

La drogue, pulvérisée et alcalinisée par l'ammoniaque, est extraite par un solvant organique (chlorure de méthylène, chlorofor-forme). Les alcaloïdes sont purifiés sous forme de sels (sulfates, chlorhydrates) puis extraits de la solution acide par le chlorure de méthylène après réalcalinisation.

En ce qui concerne le fractionnement des alcaloïdes totaux, la méthode de choix par sa sélectivité est la chromatographie d'adsorbtion sur alumine ou sur silice. Toutefois le totum alcaloïdique étant de composition complexe, il est nécessaire, dans la plupart des cas de recourir à la chromatographie préparative sur couches minces de gel de silice ainsi qu'à la filtration moléculaire sur gel de "Séphadex" pour obtenir des produits purs éventuellement cristallisables.

Ochrosia balansae Baill. ex Guill.

Ochrosia balansae Baill. ex Guill. = Excavatia balansae Guill. (7) est un arbre pouvant atteindre 6 - 8 m. de hauteur. Les feuilles, ovales, lancéolées sont coriaces, pointues. Les inflorescences sont axillaires dichotomes. Les fleurs, faiblement pédicellées possèdent une corolle à lobes tordus, des étamines insérées à la partie supérieure du tube. Les fruits d'abord ailés, sont ensuite comprimés, à bords aplatis, à péricarpe très aminci, à endocarpe ligneux sur la face externe.

FEUILLES.

Les échantillons étudiés ont été récoltés dans les forêts du Boulinda sur massifs péridotitiques. Les alcaloïdes totaux sont obtenus avec un rendement de 0,5%. Par utilisation des techniques précédemment citées dix alcaloïdes ont pu être isolés. Les principales constantes de ces derniers figurent dans le tableau III.

TABLEAU III

ALCALOIDES DES FEUILLES d'O. balansae

ALCALOIDE	N°	M^+	FORMULE BRUTE	P.F.	α_D
Aricine	1	382	$C_{22}H_{26}O_4N_2$	184-186°	-60° (1)
Isoréserpiline	2	412	$C_{23}H_{28}O_5N_2$	212-213°	-88° (1)
Réserpiline	3	412	$C_{23}H_{28}O_5N_2$	131°	-32° (2)
Diméthoxy picraphylline	7	442	$C_{24}H_{30}O_6N_2$	183-185°	-50° (2)
Ellipticine	17	246	$C_{17}H_{14}N_2$	310-315°	-
Méthoxy-9 ellipticine	18	276	$C_{18}H_{16}ON_2$	295°	-
Dihydro-1,2 ellipticine	19	248	$C_{17}H_{16}N_2$	296-300°	-
méthoxy-9 dihydro-1,2 ellipticine	20	278	$C_{18}H_{18}ON_2$	-	-
Tétrahydro-1,2,3,4 ellipticine	21	250	$C_{17}H_{18}N_2$	160-165°	-
Méthoxy-9 tétrahydro 1,2,3,4 ellipticine.	22	280	$C_{18}H_{20}ON_2$	-	-

(1) EtOH

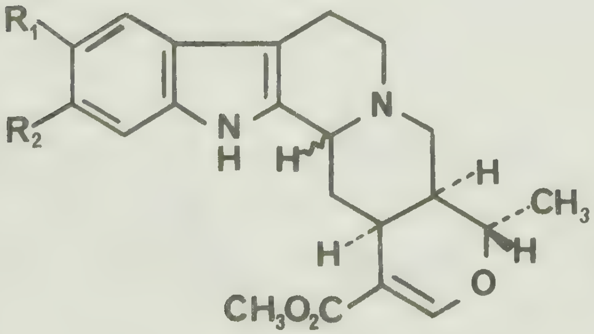
ARICINE 1

ISORESERPILINE 2 Ces deux alcaloïdes représentent respectivement 0,5 à 1% des AT; leur structure est pressentie par examen des spectres de masse et de RMN, l'identification étant réalisée par comparaison avec des échantillons de référence.

RESERPILINE 3 Elle a pu être cristallisée à l'état de base dans l'hexane

F 131° $(\alpha)_D$ - 32° ($CHCl_3$, c=1)

ceci aurait pu faire douter de l'identité du produit isolé (en effet la base n'avait jamais été obtenue à l'état cristallisé).
La transformation en chlorhydrate et la comparaison avec un échantillon authentique a levé toute ambiguïté.



1 : R_1 = H R_2 = OCH_3 $H_3\alpha$

2 : R_1 = R_2 = OCH_3 $H_3\alpha$

3 : R_1 = R_2 = OCH_3 $H_3\beta$

DIMETHOXY - 10,11 PICRAPHYLLINE 7 (N_b-méthyl oxo-3 séco-3,4 diméthoxy-10,11 H-15α H-19β H-20α hétéroyohimbane).

a) Extraction:

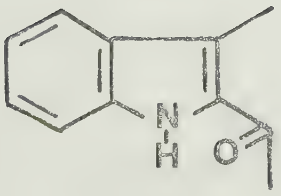
Elle est éluée lors de la chromatographie des alcaloïdes totaux par le mélange éther méthanol (98-2) avec l'ellipticine, la méthoxy-9 ellepticine et la réserpiline. Une partie importante de l'ellipticine est éliminée par cristallisation dans l'éther puis le mélange des quatre alcaloïdes est soumis à une filtration moléculaire sur gel de "Sephadex". On sépare ainsi, d'une part le mélange diméthoxy picraphylline réserpiline (PM 442-412) et d'autre part l'ensemble ellipticine, méthoxy ellipticine (PM 246 - 276). La diméthoxy-picraphylline est ensuite obtenue

pure par une nouvelle chromatographie sur colonne de silice. Elle cristallise dans l'éther, sous forme d'une poudre blanche microcristalline:

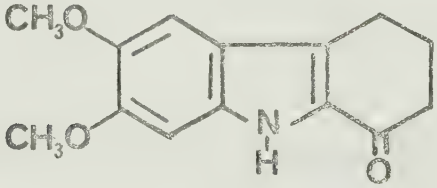
F = 183 - 185° $(\alpha)_D$ = - 50° ($CHCl_3$, c=1)

b) <u>Etude spectrale de la diméthoxy-picraphylline: Structure plane.</u>

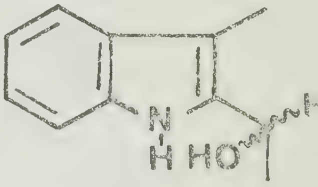
Le spectre UV mesuré en solution dans l'éthanol en milieu neutre montre deux maximums situés à 214 nm (Log ε = 4,16) et 342 nm (log ε = 4,20). La position de ces maximums est identique à celle des maximums d'absorption observée sur les spectres UV des dérivés ayant un chromophore acyl indole 32 tel que le céto-1 diméthoxy-6,7 tétrahydro -1,2,3,4 carbazole 33 (40):
λmax, (ε): 228 (11350), 336 (24900) ou la vobasine (41).



32



33



34

Afin d'établir avec certitude la présence de ce chromophore, la diméthoxy-picraphylline est soumise à l'action du borohydrure de potassium:

Le groupement carbonyle de 32 est réduit et il apparaît un chromophore purement indolique 34. Le spectre UV du dérivé obtenu (constitué par un mélange des deux alcools épimères) présente bien des maximums d'absorption à 230 et 305 nm caractéristiques de l'enchaînement diméthoxy-indolique.

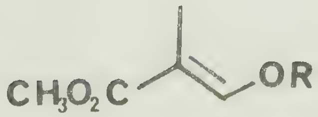
La présence, dans le spectre UV de la diméthoxy picraphylline d'un épaulement vers 240 nm révèle la présence du chromophore 35 (42)

$$CH_3 - O - \overset{\overset{O}{\|}}{C} - C = C - O -$$

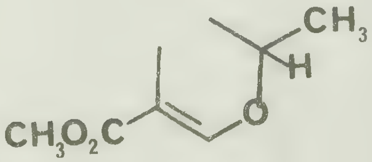
35

L'étude du spectre infra rouge (K Br) confirme ces conclusions; on relève en effet un pic à 3320 cm^{-1} (N-H indolique) et des pics à 1695 et 1635 cm^{-1} attribués au groupe carbométhoxyle conjugué de 35 un épaulement à 1660 cm^{-1} traduit la présence du carbonyle de 32.

L'étude du spectre de RMN permet de préciser la nature de l'enchaînement et notamment de choisir entre les deux possibilités 36 a et 36 b rencontrées par exemple dans la corynanthéine (43): 36a ou dans les hétéroyohimbanes comme la réserpiline: 36 b.



36 a



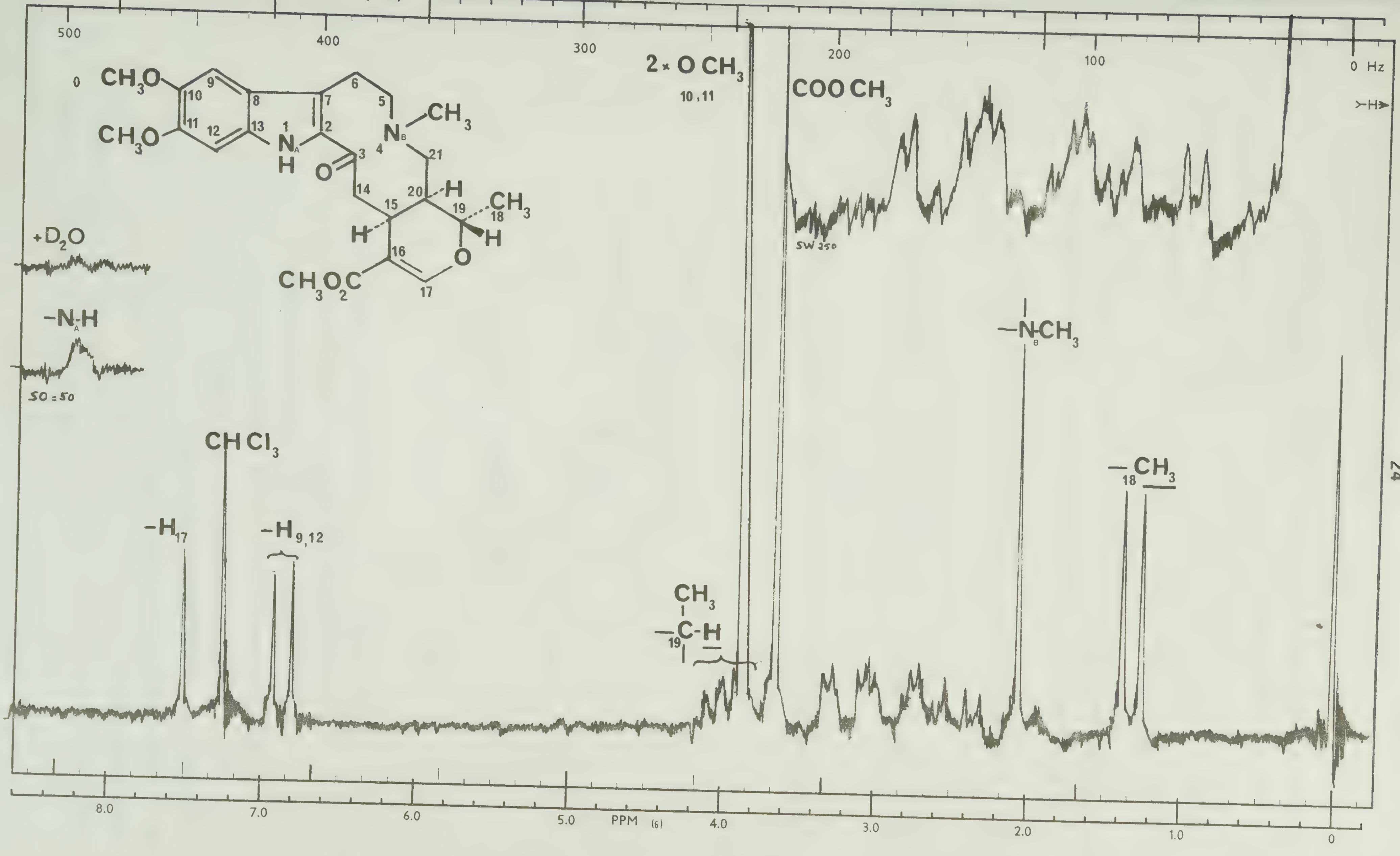
36 b

On note en effet:

- la présence d'un singulet à 3,69ppm attribuable aux trois protons d'un groupe carbométhoxyle;

- le proton oléfinique apparaît à 7,45 ppm, ce déplacement vers les champs faibles étant dû à l'influence des enchaînements éther-oxyde et ester voisins;

- enfin la présence d'un doublet correspondant à trois protons situé à 1,30 ppm ($J = 6,5\ H_z$) permet de préciser la structure 36 b de l'enchaînement.



Spectre de RMN de la diméthoxy-picraphylline

D'autres signaux apparaissent sur le spectre de RMN:

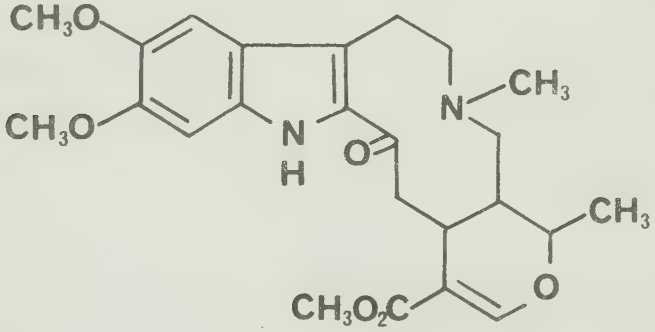
- deux singulets à 6,76 ppm et 6,9ppm attribuables à deux protons aromatiques isolés (en 9 et en 12 pour un diméthoxy 10-11 indole); des valeurs semblables sont observées dans le cas de l'isoréserpiline 2 (respectivement à 6,81 ppm et 6,93 ppm);

- un singulet correspondant à six protons situé à 3,91 ppm, dû à la superposition des signaux de deux groupes méthoxyle;

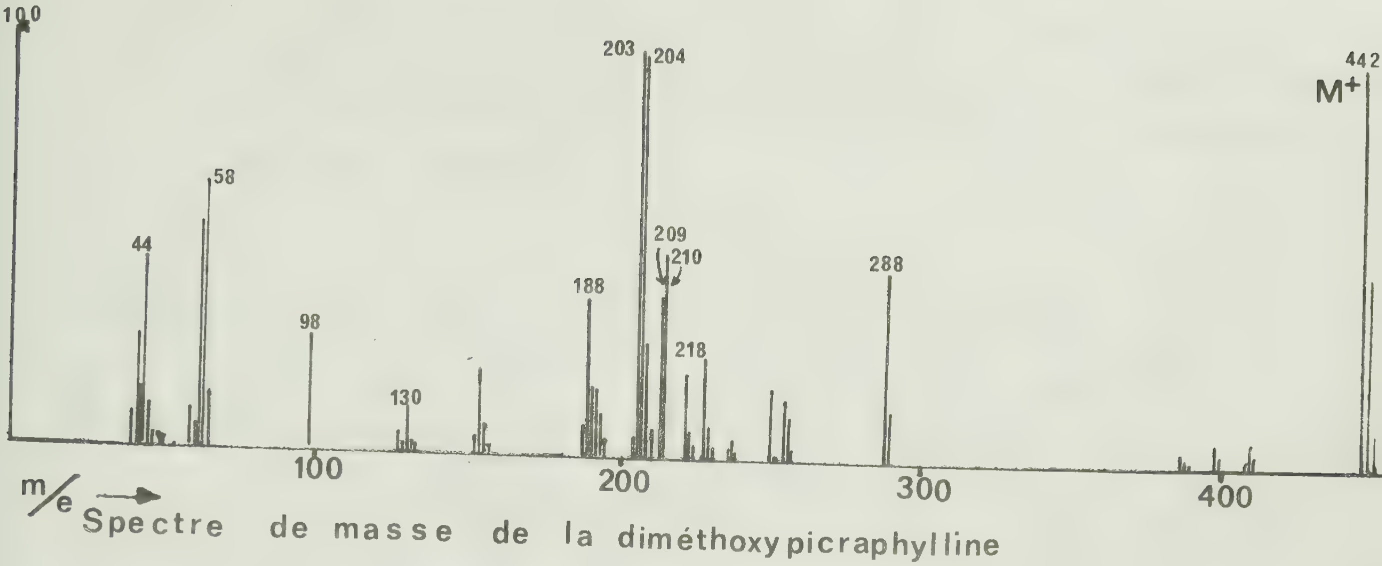
- un singulet de trois protons à 2,03 ppm pouvant provenir d'un groupe N - CH_3;

- enfin un pic à 8,55 ppm dû au proton porté par l'azote indolique.

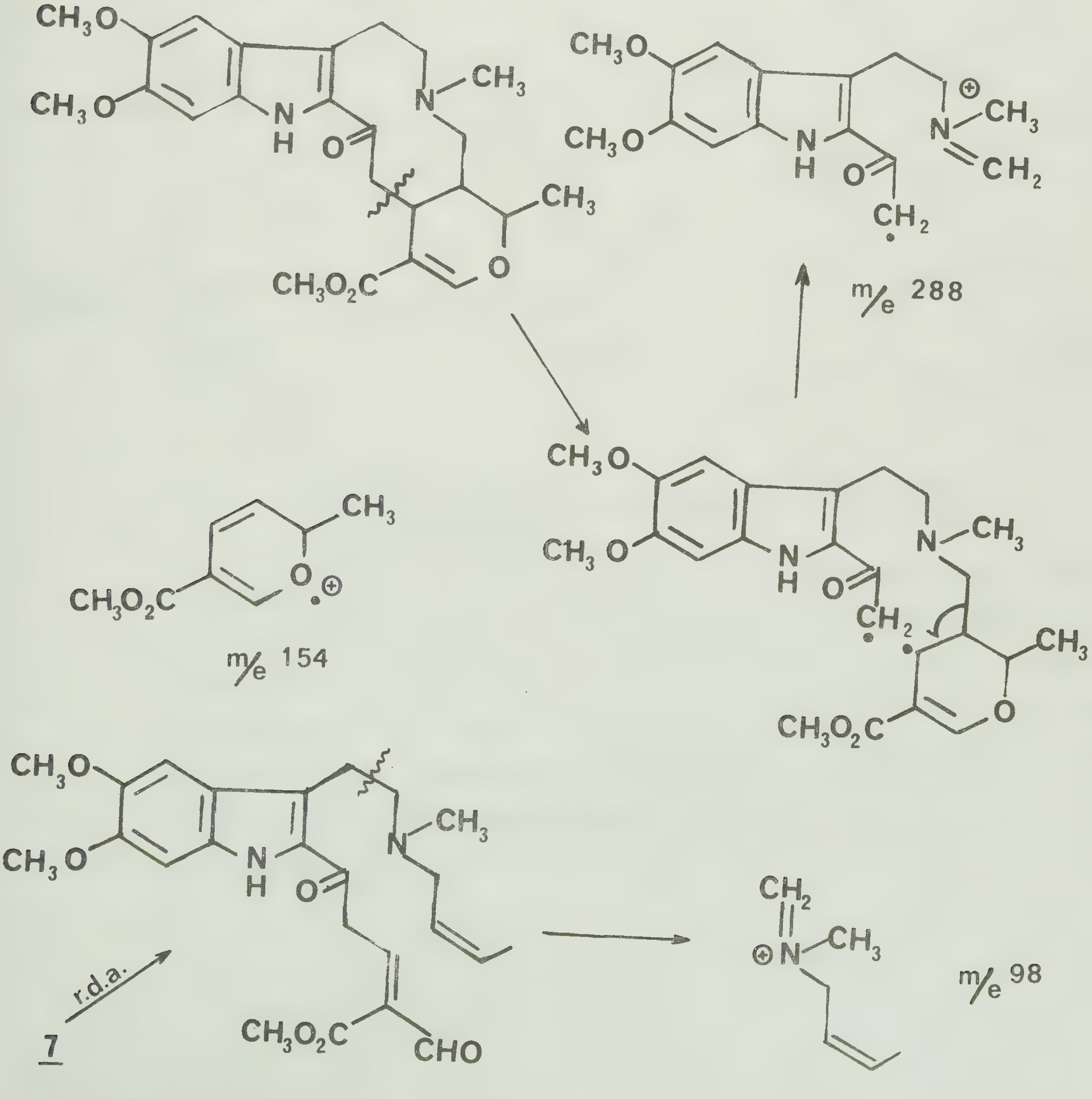
Toutes ces données sont en accord avec la formule plane suivante:



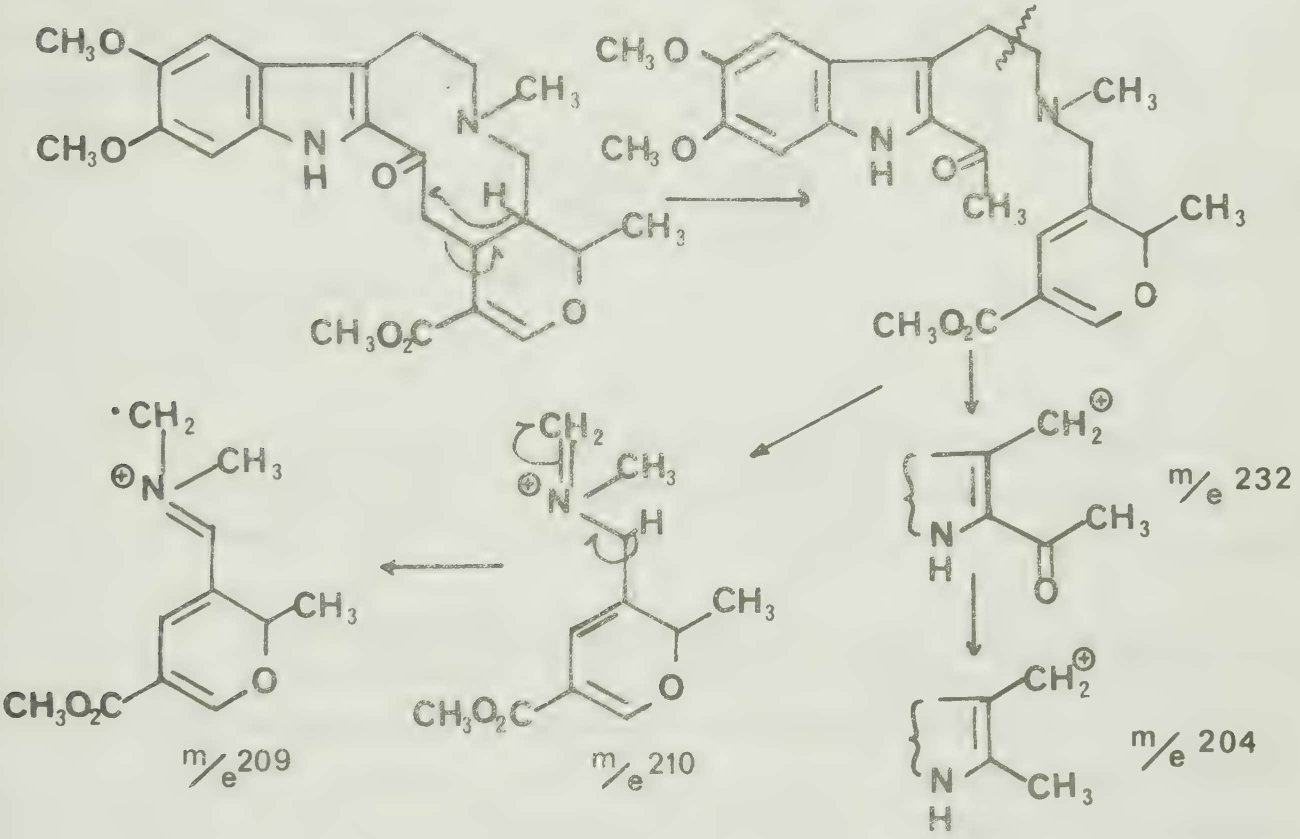
Cette formule est confirmée par examen du spectre de masse. Ce spectre montre un type de fragmentation semblable à celui observé pour la picraphylline (44). Comme dans le cas de celle-ci, on retrouve des pics associés à la présence de l'enchaînement α acylindolique, d'autres sont caractéristiques de la molécule; les pics découlant de l'enchaînement α acylindole sont décalés de 60 unités de masse (présence de deux méthoxyles supplémentaires: pics à m/e 232 (172 + 60) 204 (144 + 60)..; les ions issus des fragmentations impliquant l'hétérocycle oxygéné sont eux identiques à ceux de la picraphylline m/e 154, 209, 210.



Spectre de masse de la diméthoxypicraphylline



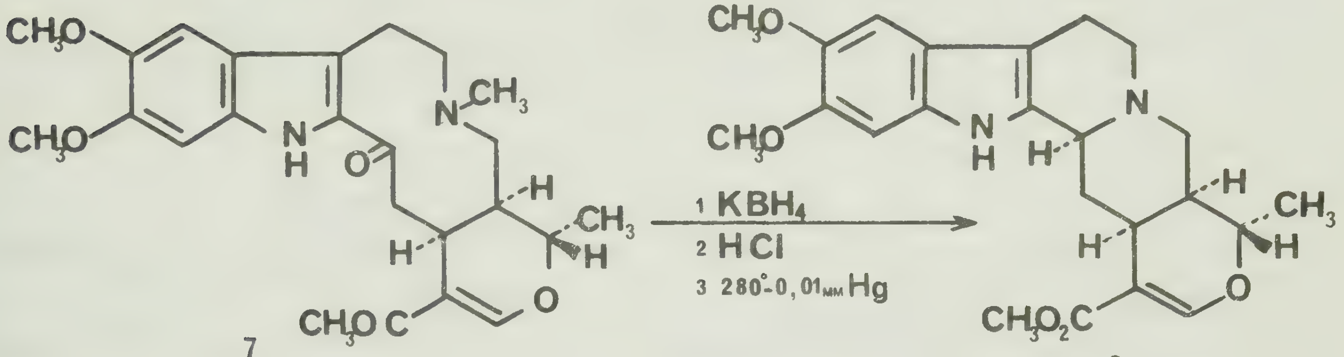
On retrouve également le pic à m/e 288 (228+ 60) caractéristique puisque résultant de la coupure C_{14} - C_{15} qui est favorisée par la position allylique de la liaison et par la conjugaison dûe au groupe carbométhoxyle.



c) Configuration en C_{15}, C_{19}, C_{20}: corrélation avec l'isoréserpiline

La méthode utilisée par LEVY (44) pour réaliser l'enchaînement pentacyclique des hétéroyohimbanes a été appliquée à 7 ; la réduction non stéréospécifique du carbonyle conduit à la formation simultanée des deux alcools épimères au niveau de C_3. Le mélange est salifié sous forme de chlorhydrates et pyrolysé à 280° sous vide poussé. Par sublimation on obtient une huile qui est en tous points identique à l'isoréserpiline (Rf en CCM, RMN, IR, SM superposables).

La stéréochimie de la diméthoxy-10, 11 picraphylline est donc élucidée: c'est le N_b - méthyl oxo - 3 séco-3,4 diméthoxy-10,11 H-15α H-19β H-20α hétéroyohimbane 7.



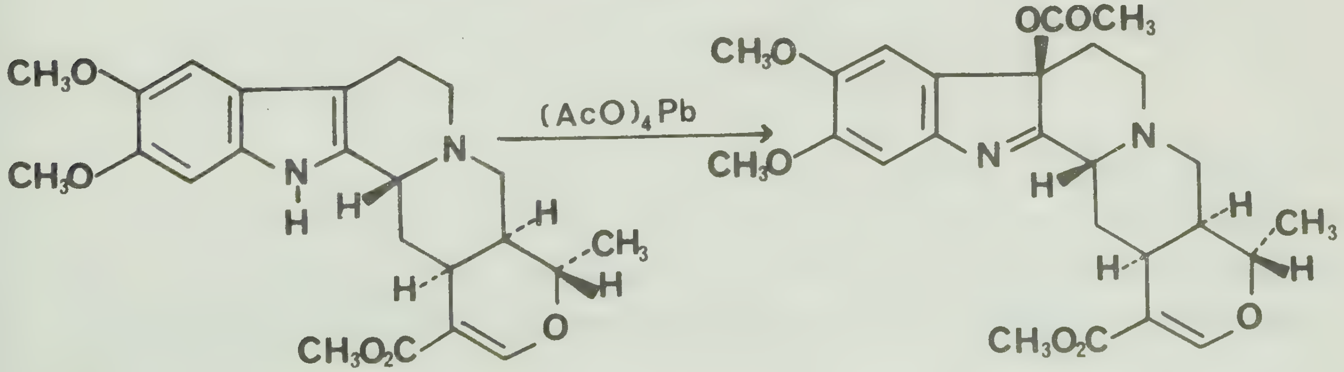
7 → 2

Il est à noter que cette cyclisation conduit exclusivement au dérivé H-3α qui est thermodynamiquement le plus stable (45); l'isomère H-3β n'a pu être mis en évidence, même à l'état de traces.

d) Hémisynthèse de la diméthoxy -10,11 picraphylline.

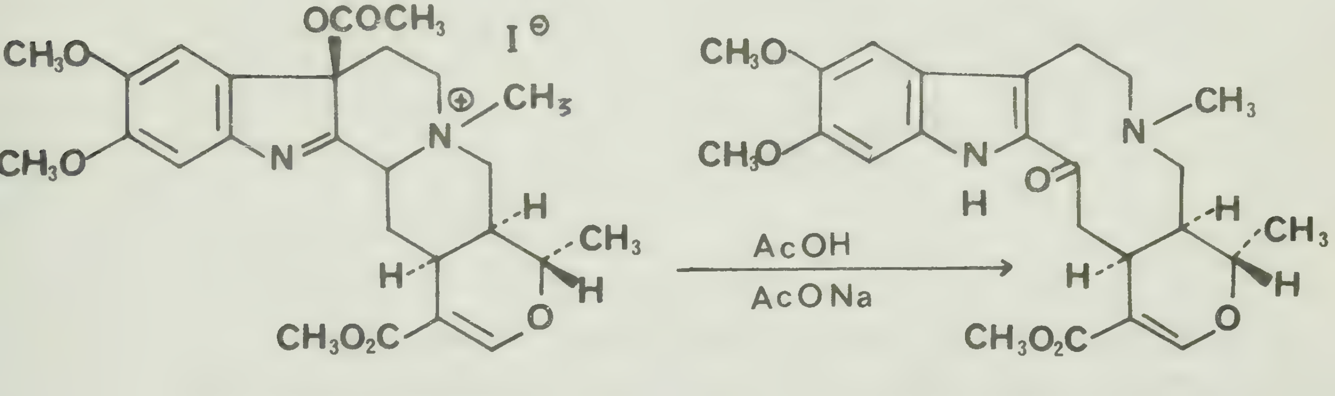
DOLBY et SAKAI (46), lors de la synthèse partielle de la dihydro-burnamicine, ont décrit une méthode permettant d'accéder aux dérivés N_b - méthyl oxo - 3 séco - 3,4; la dihydrocorynanthéine transformée en iodométhylate de 7-acétoxy 7-H dihydrocorynanthéine par action successive du tetraacétate de plomb et de l'iodure de méthyle et soumise à une acétolyse conduit à la N_b-méthyl oxo-3 séco-3,4 dihydrocorynanthéïne.

De la même façon la réserpiline 3 a été transformée en 7 acétoxyindolénine 37.



3 → 37

L'acétoxyindolénine 37 traitée par ICH_3 conduit à l'iodométhylate 38, lequel est porté à reflux dans l'acide acétique aqueux, en présence d'acétate de sodium. Après alcalinisation par NH_4OH et extraction, on obtient un mélange complexe duquel on isole avec un rendement de 4%, un produit identifié par comparaison de toutes ses constantes physiques, y compris le pouvoir rotatoire, à la diméthoxy picraphylline naturelle 7.



38 7

Autres produits de la réaction.

Le produit majoritaire de la réaction (R = 50%) cristallise dans le chloroforme:

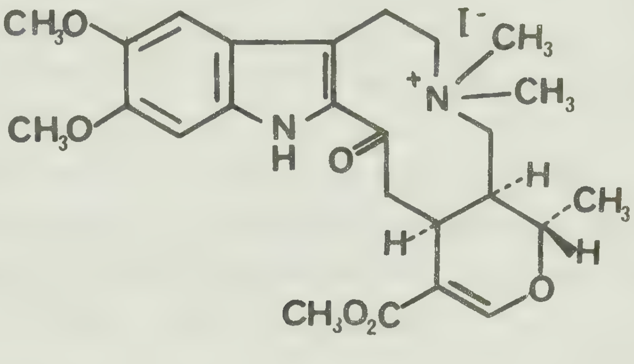
F 205 - 207° $(\alpha)_D$ -85° (pyridine, c=0,6).

Il présente un spectre UV [EtOH, λnm, (logε)] : 220 (4,55), 335 (4,36), caractéristique du chromophore acyl-indole; la présence d'une fonction cétone est d'ailleurs confirmée par le spectre IR: (1710, 1630 cm^{-1}: carbométhoxyle conjugué, 1610 cm^{-1}: C=O).

La présence dans le spectre de masse de pics à m/e 127 et 142 ainsi que la très forte polarité en CCM indique qu'il s'agit d'un iodométhylate. Le pic moléculaire n'est pas visible.

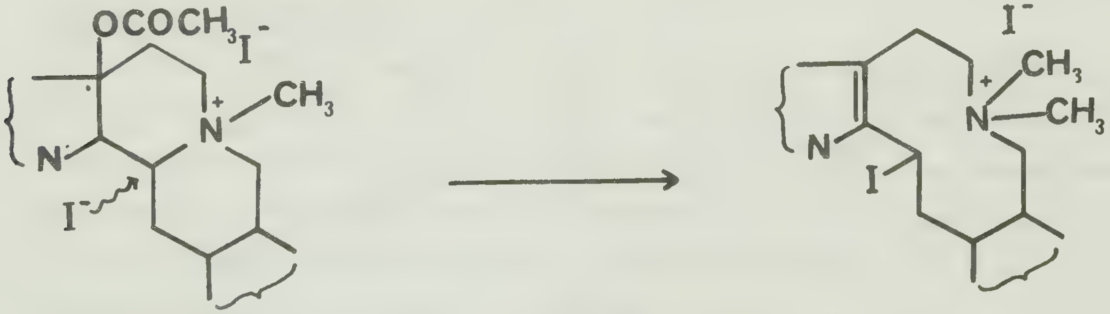
Le spectre de RMN montre tous les éléments caractéristiques du squelette de la diméthoxy-picraphylline (diméthoxy αacylindole et noyau E de l'hétéroyohimbane). La présence d'un signal correspondant à six protons à 2,73 ppm pouvant être du à un groupement N-diméthyl

conduit à penser que le produit isolé est l'iodométhylate de diméthoxy-picraphylline 45; l'analyse centésimale ne contredit pas cette hypothèse ($C_{25} H_{33} O_6 N_2 I$) et ce produit présente en CCM dans différents solvants le même comportement que l'iodométhylate obtenu par action de ICH_3 dans l'acétone sur la diméthoxy-picraphylline 7.



45

Pour qu'un tel dérivé se soit formé il faut admettre qu'il y ait eu ouverture C_3--- N_b avant l'acétolyse. Cette ouverture peut être due à l'attaque de I^- sur le carbone 3 de l'iodométhylate d'acétoxy-7 réserpiline 38. S'il en est ainsi l'analyse centésimale effectuée sur 38 devrait montrer la présence de deux atomes d'iode.



En fait les résultats (1 iode: 20%, trouvé: 27%) montrent que le produit soumis à l'acétolyse est vraisemblablement constitué par un mélange qui doit contenir une forte proportion d'iodométhylate du dérivé iodé "ouvert". Le but de la réaction étant de reproduire la diméthoxy-picraphylline 7 l'étude des autres produits de la réaction n'a pas été poursuivie plus avant.

La même séquence réactionelle, appliquée à l'isoréserpiline n'a pas permis d'obtenir la diméthoxy-picraphylline:

- l'oxydation par le tétraacétate de plomb du dérivé H-3β se fait avec un rendement de l'ordre de 20% alors que pour le dérivé H-3α l'acétoxy indolénine n'est obtenue - dans les mêmes conditions opératoires - qu'avec 8% de rendement.

- la transformation de l'acétoxy-indolénine du dérivé H-3α en iodométhylate se fait avec 25% de rendement au bout de quatre jours alors qu'elle est immédiate dans le cas du dérivé H-3β .

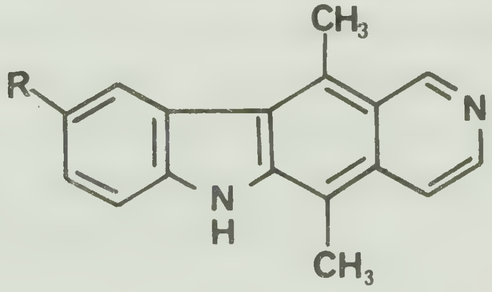
- enfin l'acétolyse de l'iodométhylate d'acétoxy-indolénine d'isoréserpiline conduit à un mélange complexe de produits très polaires qui n'ont pu être identifiés; de plus une quantité notable du produit de départ reste inaltérée.

ELLIPTICINE 17

C'est l'un des alcaloïdes majoritaires (près de 20% des A.T.) identifié très facilement par l'ensemble de ses spectres, spectre IR superposable à celui d'un échantillon de référence.

METHOXY-9 ELLIPTICINE 18

En quantité moindre (0,5 à 1%) elle syncristallise avec l'ellipticine 17 et peut être obtenue pure par une suite de cristallisations successives dans des solvants différents. Sa transformation en N-méthyl tétrahydro-1,2,3,4 méthoxy-9 ellipticine par réduction de son iodométhylate permet de l'identifier sans ambiguité par comparaison avec un échantillon authentique.



17 R=H
18 R=OCH$_3$

DIHYDRO-1,2 ELLIPTICINE <u>19</u> et DIHYDRO-1,2 METHOXY-9 ELLIPTICINE <u>20</u>

ISOLEMENT:

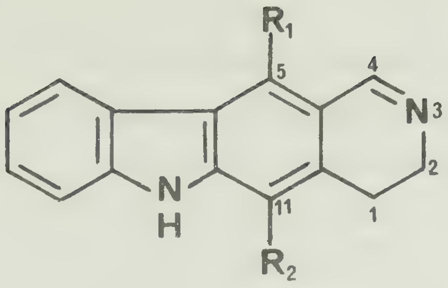
Les fractions éluées par l'éther méthanol (90 - 10) lors de la chromatographie des alcaloïdes totaux sont soumises à une chromatographie préparative sur couche épaisse de silice, ce qui conduit à l'isolement d'un produit apparemment pur. Cependant la CCM, avec pour solvant de développement un mélange d'éther-hexane (70-30), additionné de méthanol (5%), montre qu'il s'agit, en fait, d'un mélange de deux alcaloïdes de Rf très proches et qu'il n'a pas été possible de séparer.

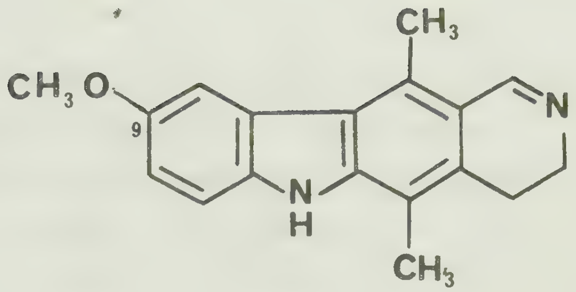
STRUCTURE:

- Le spectre UV du mélange est proche de celui d'un dihydro-1,2 10-H pyrido (4,3-b) carbazole <u>39</u> (47) et plus précisément de celui de la dihydro-1,2 ellipticine <u>19</u>: λ max (nm) 240, 278, 315 et 380 épaulements vers 270 et 295.

- Le spectre de RMN présente à 2,41 et 2,92 ppm deux singulets correspondants aux méthyles en 5 et 11 des dérivés du type ellipticine, ainsi qu'un ensemble de signaux entre 2,70 et 3,20 ppm dûs aux quatre protons en 1 et 2. De plus on observe à 3,82 ppm un signal attribuable à un groupement méthoxyle sur un noyau benzénique, mais l'intensité de ce signal n'est pas en rapport avec celle des autres signaux, ce qui indique qu'il n'appartient qu'à l'un des deux alcaloïdes du mélange.

- Le spectre de masse laisse apparaître peu de fragmentations notables. On note des pics à m/e 278, 263, 248 et 233, ce qui s'interprète très bien si l'on considère que l'on a un mélange de dihydro-1,2 ellipticine <u>19</u> (M^+= 248, m/e 233=M-15) et de dihydro-1,2 méthoxy-9 ellipticine <u>20</u> (M^+ = 278, m/e 263 = M - 15). On observe en outre les pics à m/e = M-1, caractéristiques de ces dérivés (48).





20

39 $R_1 = R_2 = H$

19 $R_1 = R_2 = CH_3$

- Lors de l'hydrogénation catalytique de l'ellipticine et de la méthoxy-9 ellipticine (cf. paragraphe tétrahydro ellipticine) une petite quantité de dihydro-ellipticine et de méthoxy-dihydro-ellipticine a pu être isolée, ce qui a permis de confirmer la réalité de 19 et 20 (Rf en CCM, SM, IR superposables).

TETRAHYDRO-1, 2, 3, 4 ELLIPTICINE: 21

TETRAHYDRO-1, 2, 3, 4 METHOXY-9, ELLIPTICINE: 22

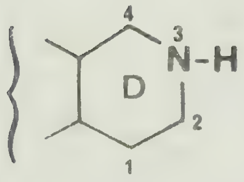
a) ISOLEMENT:

Les fractions méthanoliques de la chromatographie des alcaloïdes totaux cristallisent dans le benzène. Les cristaux obtenus sont recristallisés jusqu'à point de fusion constant. En CCM, avec les solvants habituellement utilisés, le produit semble pur, en fait avec le mélange précédemment utilisé pour la séparation de 19 et 20 on peut montrer qu'il s'agit d'un mélange qui n'a pu être séparé, aucun solvant n'ayant permis d'obtenir des Rf suffisamment différents pour envisager une chromatographie préparative sur couche mince; les cristallisations fractionnées dans différents solvants n'ont pas non plus permis une séparation.

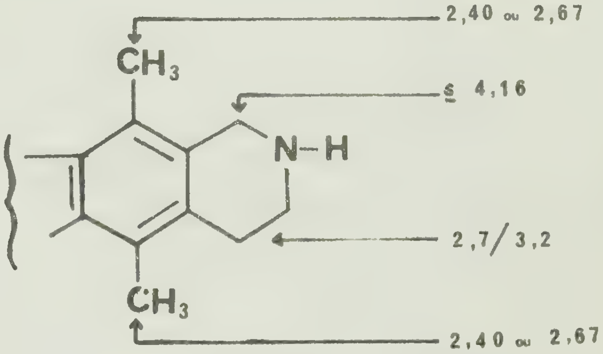
b) STRUCTURE:

Le spectre ultra violet du mélange enregistré dans l'éthanol en milieu neutre indique qu'il s'agit de produits du groupe de l'ellipticine: maximums à 242, 262, 291, épaulements à 228, 249, 316 et 341 nm; il est pratiquement superposable à celui de la N-méthyl tétrahydro ellipticine (49).

La non modification du spectre en milieu acide montre que l'on a affaire à des dérivés dans lesquels le cycle D est saturé et l'azote Nb engagé dans une fonction amine secondaire (<u>A</u>). L'obtention de dérivés acétylés (en mélange) par action de $(CH_3CO)_2O$ dans la pyridine confirme cette hypothèse.



A



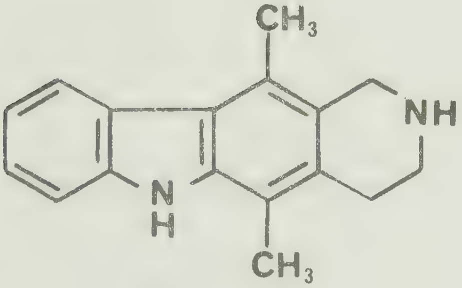
B

Une deuxième confirmation est apportée par l'examen du spectre de RMN: on peut y noter des signaux de 2,7 à 3,2 ppm correspondants aux quatre protons en 1 et 2 et un singulet à 4,16 ppm d'intensité deux protons attribuable aux deux protons en 4. Ce spectre présente également deux singulets correspondants chacun à trois protons 2,40 et 2,67 ppm: groupes méthyle sur noyau benzénique. Toutes ces données permettent de supposer la présence de l'enchaînement <u>B</u>.

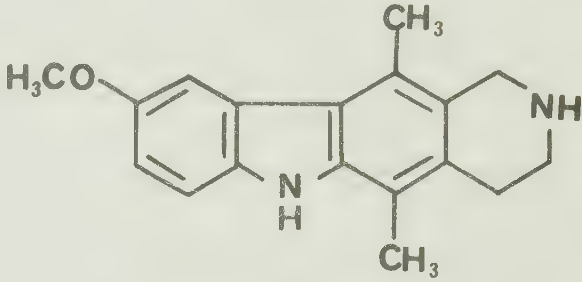
Enfin la présence d'un singulet à 3,84 ppm pouvant être attribuée à un méthoxyle sur un noyau benzénique, mais dont l'intégration ne correspond pas à trois protons, conduit à postuler pour les deux alcaloïdes, les structures <u>21</u> et <u>22</u>, le mélange étant constitué d'environ 2/3 de <u>21</u> ($C_{17}H_{18}N_2$) et 1/3 de <u>22</u> ($C_{18}H_{20}N_2O$).

Ceci est confirmé par l'analyse centésimale qui montre une déficience en oxygène traduisant la réalité du mélange <u>21</u> + <u>22</u>.

- Le spectre de masse laisse apparaître peu de fragmentations du fait du caractère très aromatique de ces molécules (48). De ce fait il ne fournit que peu de renseignements sur la structure. Le pic de base (m/e 250) correspond à l'ion moléculaire $(C_{17} H_{18} N_2)^+$ la présence d'un pic à m/e 280 traduit la présence dans le mélange de l'homologue méthoxylé $C_{18} H_{20} N_2O$.



21



22

Pour vérifier le bien-fondé de l'hypothèse structurale émise pour 21 et 22, la tétrahydro-1,2,3,4 ellipticine a été préparée par hydrogénation catalytique de l'ellipticine 17 (50). La présence dans la plante de méthoxy-9 ellipticine 18 permettant d'envisager que le méthoxyle est également en position 9 dans le dérivé saturé, la tétrahydro-1,2,3,4 méthoxy-9 ellipticine a été préparée de la même façon à partir de la méthoxy-9 ellipticine 18.

La superposition exacte des spectres de RMN et de masse des deux produits tétrahydrogénés de synthèse d'une part, et du mélange alcaloïdique isolé d'autre part, ainsi que l'identité des Rf en CCM confirment bien l'hypothèse précédemment posée.

Dans le tableau IV on trouvera les valeurs expérimentales en δ ppm des déplacements chimiques des différents signaux

observés sur les spectres de RMN des différents composés naturels ou hémisynthétiques de la série de l'ellipticine.

TABLEAU IV

δ ppm, TMS = 0, $CDCl_3$ + C_5D_5N

Alcaloïde	CH_3 5-11 et $N-CH_3$	CH_2 (4)	CH_2 (1,2)	$-OCH_3$
Ellipticine	2,60 3,05			
Méthoxy-9 ellipticine	2,71 3,20			3,85
Tétrahydro ellipticine	2,40 2,66	4,12	2,7/3,2	
Tétrahydrométhoxy ellipticine	2,40 2,67	4,16	2,7/3,2	3,85
Tétrahydro ellipticine + méthoxy tetrahydro ellipticine	2,40 2,67	4,16	2,7/3,2	3,84
Dihydro ellipticine et dihydro méthoxy-ellipticine	2,41 2,91		2,6/3,0	3,82
N-Méthyl tétrahydro ellipticine	2,35 2,53 2,68	3,70	2,6/3,0	
N-Méthyl tétrahydro méthoxy ellipticine	2,34 2,53 2,68	3,70	2,6/3,0	3,89

ECORCES

Les écorces de tronc d'O. balansae extraites selon la méthode générale décrite au début de ce chapitre fournissent 1,2% d'alcaloïdes totaux.

Deux lots ont été étudiés:

- le premier fournit quatre alcaloïdes:

aricine 1	0,015 g/Kg
isoréserpiline 2	1,7 g/Kg
réserpiline 3	1,2 g/Kg
ellipticine 17	3 g/Kg

- dans le second lot on retrouve ces quatre alcaloïdes dans les proportions à peu près identiques.

En outre de faibles quantités (de l'ordre du mg/Kg) de méthoxy-9 ellipticine 18 et de dimethoxypicraphylline ont pu être isolées.

***

On remarquera la similitude de composition des feuilles et des écorces.

Six des alcaloïdes isolés étaient précédemment connus et la plupart d'entre eux sont fréquents dans le genre Ochrosia: ellipticine 17, isoréserpiline 2; la réserpiline 3 est moins fréquente alors qu'elle est largement distribuée dans le genre Rauwolfia.

La dihydro-1,2 ellipticine n'avait pas - à ce jour - été mise en évidence chez les Ochrosia mais avait été isolée d'autres Apocynacées appartenant au genre Aspidosperma (49,50).

La mise en évidence des dérivés di et tétrahydrogénés 20,21 et 22 (alcaloïdes nouveaux) ne doit pas surprendre: il est logique de penser qu'ils constituent des stades intermédiaires lors de la biogénèse de l'ellipticine 17.

La présence simultanée de la diméthoxy-10-11 picraphylline -alcaloïde nouveau- et des alcaloïdes 2 et 3 (isoréserpiline, réserpiline) est à noter, en raison de leurs rapports structuraux très étroits.

Ochrosia mulsanti Montr.

ECORCES

Ochrosia mulsanti Montr. (9) = Ochrosia vieillardii Guill. (6) est un arbrisseau de 1 à 2 mètres de haut qui se caractérise par des feuilles petites, verticillées par quatre, semi coriaces, à limbe arrondi vers le haut, par ses inflorescences courtes, ses fleurs blanches, sessiles et par son fruit non fibreux, ovoïde, aplati. Il est classé dans la section Lactaria.

Seules les feuilles avaient jusqu'à ce jour fait l'objet d'une étude chimique, trois alcaloïdes ayant été isolés et caractérisés: isoréserpiline 2, ellipticine 17 et méthoxy-10 dihydro corynanthéol 12 (20).

Isolement des alcaloïdes.

L'échantillon étudié a été récolté en août 1971 au nord-ouest de la Grande Terre (Paagoumène) où il fait partie des maquis bas et denses sur péridotites.

L'extraction selon la méthode générale décrite fournit les alcaloïdes totaux avec un rendement de 1,08%. Si une quantité importante d'ellipticine 17 cristallise directement à partir du totum alcaloïdique, plusieurs chromatographies sont par contre nécessaires pour isoler:

I) isoréserpiline 2 2% des AT
2) réserpiline 3 3%
3) diméthoxy-picraphylline 7 0,5%
4) une nouvelle quantité d'ellipticine 17 (cette dernière représente au total près de 30% des AT)
5) dihydro-1,2 ellipticine 19 5%
6) tétrahydro-1,2,3,4 ellipticine 21 10%
7) ochropposinine 13
8) N_b-oxy ellipticine 23

OCHROPPOSININE 13

Cet alcaloïde $C_{21} H_{30} O_3 N_2$ (α) 578 - 18°($CH Cl_3$, c=1) présente un spectre UV: 228 (4,37), 284 (3,76), 292 (3,79), 296 (3,80), caractéristique d'un chromophore diméthoxy-5,6 indole. Le spectre de masse présente une fragmentation identique à celle du méthoxy-10 dihydrocorynanthéol; il a été identifié à l'ochropposinine dont la structure a été récemment publiée par N. PEUBE LOCOU qui l'a isolée d'*Ochrosia oppositifolia* (36).

N_b- OXY ELLIPTICINE 23

Cet alcaloïde a été isolé par chromatographie sur couche mince à partir des fractions éther-méthanol (99 - I) de la chromatographie des alcaloïdes totaux. Il n'a pu être obtenu cristallisé.

La base pure, amorphe présente un spectre UV dans l'éthanol en milieu neutre très proche de celui de l'ellipticine 17 (λ max à 240, 268, 278, 288, 295 et 330 nm). L'allure du spectre n'est pas modifiée en milieu alcalin mais par contre dans l'éthanol chlorhydrique on observe un net effet bathochrome (λ max 245_e, 307, 350_e nm).

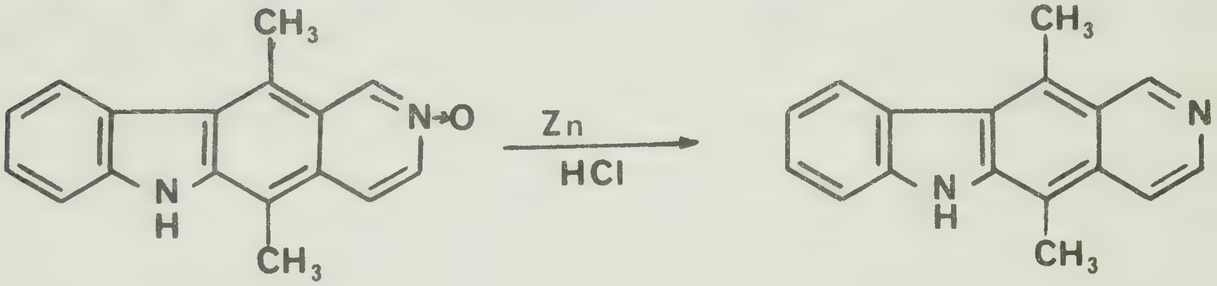
Le spectre de RMN est semblable à celui de l'ellipticine bien que les signaux dûs aux groupements méthyle sur le noyau aromatique soient légèrement déplacés.

Le spectre de masse montre un ion moléculaire à m/e 262 qui est compatible pour un dérivé oxygéné de l'ellipticine de formule brute $C_{17} H_{14} N_2 O$.

Cet atome d'oxygène ne peut faire partie d'un groupe carbonyle (I.R.) ni d'un groupement phénolique (le spectre UV on l'a vu n'est pas modifié en milieu alcalin). Le spectre de masse montre un pic de base à m/e 246 ce qui correspond à la perte immédiate d'un oxygène, le reste du spectre, comme celui de l'ellipticine, ne montre pratiquement pas de fragmentations.

Ces différentes constatations conduisent à postuler la structure 23 (Nb - oxy ellipticine) pour l'alcaloïde isolé.

En traitant cette N_b-oxy ellipticine par le zinc en milieu chlorhydrique, dans le méthanol à température ordinaire, on obtient l'ellipticine 17 ce qui confirme l'hypothèse.



23 — 17

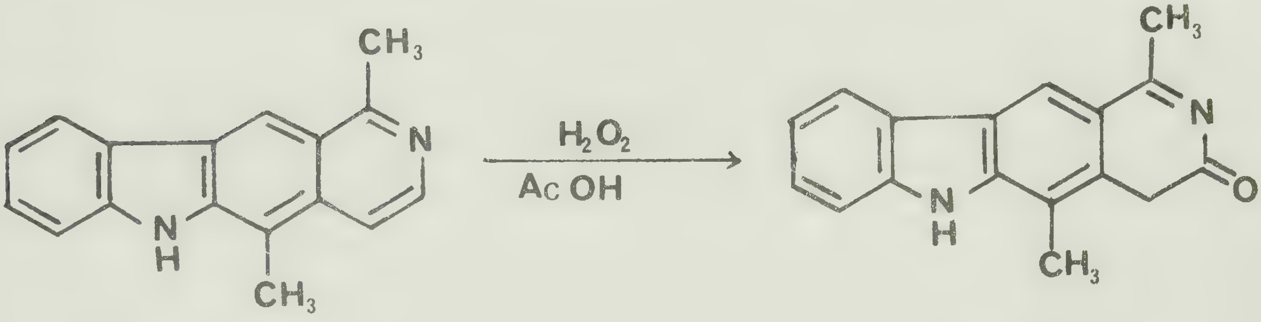
La N_b-oxy ellipticine n'est pas un artefact. Les conditions de récolte, de séchage et d'extraction permettent d'affirmer qu'il ne s'agit pas d'un artefact. D'ailleurs un composé voisin la N_b-oxy olivacine a déjà été décrite après sa mise en évidence chez Aspidosperma nigricans (51).

N_b oxydation de l'ellipticine 17 → N_b-oxy ellipticine 23.

Plusieurs méthodes sont envisageables pour transformer l'ellipticine en N_b-oxy ellipticine par N oxydation directe.

I) Si le peroxyde d'hydrogène seul est un mauvais réactif de N oxydation pour des dérivés ayant l'atome d'azote engagé dans un hétérocycle aromatique, mis en présence d'un acide tel que l'acide acétique, il y a équilibre avec le peracide correspondant qui est lui, beaucoup plus actif (52).

En fait GILBERT (51) a montré que l'olivacine 40, traitée par un mélange d'eau oxygénée et d'acide acétique conduit à la formation d'un dérivé pour lequel il propose la structure 40a

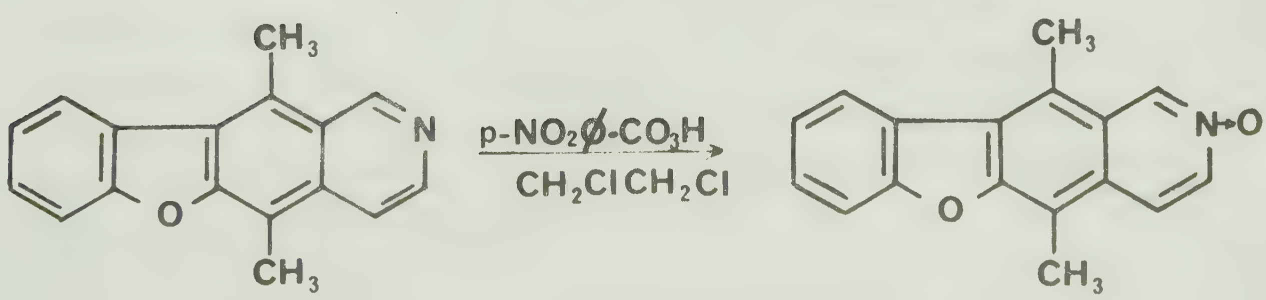


40 40 a

2) En utilisant l'acide paranitroperbenzoïque dans le diméthylformamide ce même auteur transforme l'olivacine 40 en un mélange de deux produits dont l'un est identifié à la N-oxy olivacine naturelle.

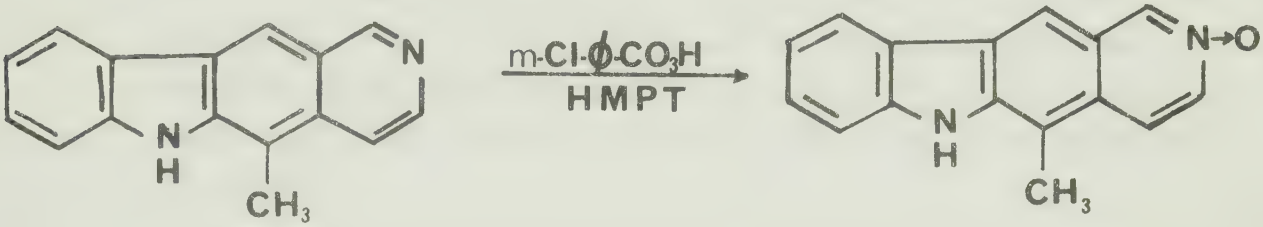
3) La formation de dérivés N-oxy à partir d'analogues de l'ellipticine a été étudiée par FUJIWARA (53); cet auteur a notamment obtenu:

a) l'oxy-2 diméthyl-5,11 benzofuro-(2,3)g isoquinoléine (N-oxy oxaellipticine) 42 à partir de l'oxaellipticine 41 par action de l'acide paranitroperbenzoïque dans le dichloroéthane.



41 42

2) l'oxy-2 desméthyl-5 6-H pyrido (4,3-b) carbazole (Nb-oxy desméthyl- 5 ellipticine) 44 à partir de la desméthyl ellipticine 43 par action de l'acide méta-chloro-perbenzoïque dans l'hexaméthylphosphorotriamide.



43 44

Dans le cas de l'ellipticine plusieurs essais ont été effectués:

a) acide paranitroperbenzoïque dans les solvants suivants:

- diméthylformamide
- chloroforme
- dichloroéthane
- hexaméthylphosphorotriamide

aucun de ces essais n'a permis d'obtenir la N_b-oxy ellipticine. Dans tous les cas on observe la formation de trois ou quatre produits; après séparation de ceux-ci par chromatographie sur plaques de gel de silice on peut constater la profonde altération subie par l'ellipticine: disparition totale du chromophore caractéristique des pyrido carbazoles (spectre UV).

b) peroxyde d'hydrogène.

- dans un mélange $CH\ Cl_3$-Me OH

à côté du produit de départ non transformé on obtient un composé qui est isolé par chromatographie sur couche mince. Son spectre UV est décalé, par rapport à celui de 23, d'environ 10 nm; il présente en outre un maximum à 317 nm absent dans dans le spectre UV du produit naturel 23.

- en milieu acide acétique

le produit obtenu présente en CCM le même comportement que la N-oxy ellipticine 23. Son spectre de masse montre un pic à m/e 262 mais ce pic est moins intense que le pic m/e 246 (on observe un phénomène inverse dans le cas de 23). Le spectre IR est superposable à celui de l'ellipticine à l'exception d'une bande à 1160 cm^{-1}, caractéristique des N-oxydes (54). Le spectre UV est très proche de celui de la N_b-oxy ellipticine naturelle mais présente une petite absorption supplémentaire à 316 nm.

Si la différence entre les spectres de masse de 23 et du produit obtenu peuvent s'expliquer par le fait qu'ils n'ont pas été enregistrés à la même température, celle qui existe entre les spectres UV est difficilement interprétable.

Il est de ce fait impossible d'affirmer que le produit obtenu est identique au produit naturel.

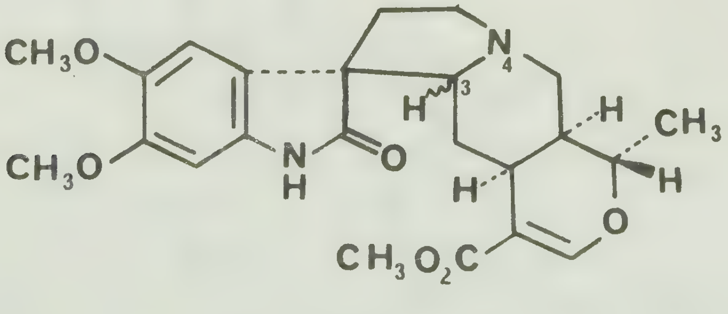
Ochrosia confusa Pichon.

O. confusa pichon (8) est un arbre de 10 à 15 m. à feuilles verticillées, à limbe arrondi au sommet. Les cymes ont 15 à 30 fleurs, le tube de la corolle n'est pas épaissi au dessous des étamines et les lobes sont de la même longueur que le tube; on note la présence d'un anneau pileux à la base de la clavoncule. L'ovaire est adhérent à la base, le fruit inconnu.

ECORCES

L'échantillon étudié a été récolté en septembre 1970 sur la côte est de la Nouvelle Calédonie, sur terrain de roches calcaires, près de la rivière Tipindjé. Le rendement en alcaloïdes totaux est de 0,39% et la composition est fort complexe. Une filtration sur alumine fournit trois fractions (benzène, éther, méthanol); de la fraction éthérée, après chromatographies sur colonne et sur couche mince, on retire dix alcaloïdes isolés à l'état pur.

Pour quatre d'entre eux les quantités obtenues (inférieures à 2 mg) n'ont pas permis l'identification; l'examen de leurs spectres de masse permet seulement d'affirmer qu'il ne s'agit d'aucun des alcaloïdes déjà caractérisés dans les différentes espèces du genre Ochrosia.



8 $_3$R $_4$S

9 $_4$R $_3$S

Six autres alcaloïdes ont été isolés et identifiés:

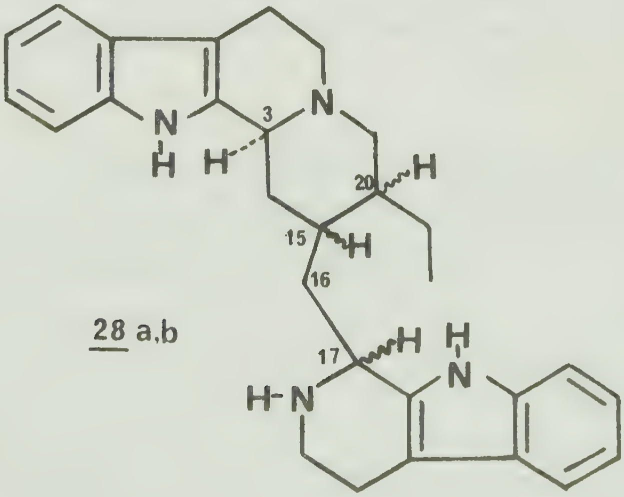
ALCALOIDE	N°	FORMULE BRUTE	M^+	P.F.	(α)
Ellipticine	17	$C_{17}H_{14}N_2$	246	310-315°	-
Rauvoxine	9	$C_{23}H_{28}O_6N_2$	428	210°	+ 98° *
Carapanaubine	8	$C_{23}H_{28}O_6N_2$	428	218-219°	+115° *
Ochrolifuanine A	28a	$C_{29}H_{34}N_4$	438	amorphe	+ 15° *
Déhydro-3,4 ochrolifuanine A	30	$C_{29}H_{32}N_4$	436	amorphe	
Méthoxy-10 dihydro corynanthéol	12	$C_{20}H_{28}O_2N_2$	328	166-167°	- 8° **

* RAIE D

** à 578 nm.

Ochrolifuanine A.

L'alcaloïde 28a qui a été par ailleurs isolé en plus grande quantité d'*O. seveneti* n'a pu être cristallisé, il présente un pouvoir rotatoire mesuré dans l'éthanol de + 15° (à 578 nm) son poids moléculaire est de 438 et son spectre de masse présente des fragmentations voisines de celles observées pour l'usambarine, alcaloïde isolé de *Strychnos usambarensis* Gilg. (55).



28 a,b

Il a été identifié à l'ochrolifuanine A 28a isolée simultanément d'*O. "lifuana"* par N. PEUBE LOCOU (31).

Oxindoles

C'est la première fois que sont caractérisés des oxindoles dans le genre *Ochrosia*: carapanaubine 8 et rauvoxine 9 isolés précédemment de l'*Aspidosperma carapanauba* (56) et du *Rauwolfia vomitoria* (57).

***

Comme cela a été dit plus haut BOITEAU a récemment montré que *O. confusa* et *O. lifuana* sont en fait une seule et même espèce, l'échantillon de *lifuana* qui a été examiné étant une forme parasitée du *confusa*. La dénomination *O. confusa* Pichon demeure seule valable.

Si l'on examine la composition alcaloïdique des lots étudiés (*O. "lifuana"* par N. PEUBE LOCOU et *O. confusa* au cours de ce travail) on peut énoncer les remarques suivantes:

1°) Dans les deux cas on note la présence de dérivés résultant de la condensation du dihydro-18,19 corynanthéal et de la tryptamine, c'est-à-dire les ochrolifuanines, caractéristiques de la section *Echinocaryon*.

2°) La présence dans un cas de réserpiline et d'isoréserpiline, dans l'autre de rauvoxine et de carapanaubine ne peut pas être considérée comme étant significative: ils sont biogénétiquement voisins et ont été isolés en très faibles quantités.

3°) Seule la présence d'ellipticine (bien qu'en faible quantité: 0,5% des AT) dans notre échantillon et son absence chez *O. "lifuana"* est troublante.

Comment expliquer ces différences?

- Une parasitose modifiant l'aspect des fleurs suffit-elle à expliquer l'absence d'ellipticine? Cela semble peu probable.

Les lots étudiés ayant été récoltés à des époques voisines (*O. confusa*: septembre; *O. lifuana*: 1er novembre) on ne peut invoquer des variations saisonnières.

- Doit-on conclure à l'existence de races chimiques chez *O. confusa*? seule l'étude de plusieurs échantillons récoltés en différents endroits permettrait de répondre à cette question.

- Pour qu'une comparaison valable puisse être tentée, il faudrait connaître la composition des feuilles - le Tableau V montre bien cette nécessité - il ne nous a malheureusement pas été possible de disposer d'un échantillonage de ces feuilles.

TABLEAU V

O. confusa écorces	*O. "lifuana"* écorces
Ellipticine	Réserpiline
Carapanaubine	Isoréserpiline
Rauvoxine	
10-méthoxy dihydro corynanthéol	feuilles
Ochrolifuanine A	Ochrolifuanines A et B
Déhydro-3,4 Ochrolifuanine	Déhydro-3,4 ochrolifuanine
	Descarbométhoxydihydro-gambirtannine

Ochrosia seveneti Boiteau

Ochrosia brevituba Boiteau

O. seveneti Boiteau (6) est un arbre de 6 à 10 m. à feuilles opposées, lancéolées, coriaces. Les fleurs, en cymes pauciflores, ont des sépales laciniés, une corolle dont le tube mesure environ 5 mm. Le fruit est rouge à maturité, maculé de blanc crème; le mésocarpe est fibreux. L'échantillon étudié a été récolté au dôme de Tiébaghi, sur péridotites.

O. brevituba Boiteau est également un arbre à feuilles opposées ou verticillées, membraneuses. Le fruit à mésocarpe fortement fibreux est ici d'un vert sombre ponctué de vert clair.

Pour ces deux espèces la méthode générale d'extraction décrite au début de ce chapitre s'est révélée insuffisante pour obtenir le totum alcaloïdique avec un degré de pureté satisfaisant; il en a été de même des méthodes habituelles de séparation.

Plusieurs essais ont été tentés. Si le fractionnement des chlorhydrates d'alcaloïdes totaux par extraction fractionnée à des pH croissants s'est révélée sans intérêt, de meilleurs résultats ont au contraire été obtenus avec la méthode suivante:

-1- épuisement de la poudre par l'éther de pétrole,

-2- séchage et nouvel épuisement par un solvant chloré,

-3- alcalinisation et extraction par un solvant chloré,

-4- obtention des alcaloïdes totaux par la méthode habituelle.

-5- passage aux chlorhydrates, lavage à l'éther de pétrole et retour aux bases.

En ce qui concerne le fractionnement, des essais de séparation à contre courant n'ont pas été concluants.

Le totum alcaloïdique est filtré sur alumine. Les fractions éthérées sont traitées par chromatographie sur colonne puis sur plaques de silice; l'emploi de solvants de développements successifs différents est souvent nécessaire. La majorité des produits très polaires éluée au méthanol n'a pas été étudiée.

Il faut remarquer que si le nombre de produits présentant les propriétés générales des alcaloïdes sont nombreux, on ne peut pas pour autant conclure à la présence in vivo de toutes les substances caractérisées. En effet les produits isolés présentent une extrême altérabilité (solvants, lumière, oxygène). Ils sont particulièrement sensibles aux solvants chlorés qui sont évités le plus possible, quand les solubilités le permettent.

Seuls seront envisagés ici les produits qui ont pu être caractérisés de façon non ambiguë et qui ne peuvent pas être considérés comme étant des produits de dégradation.

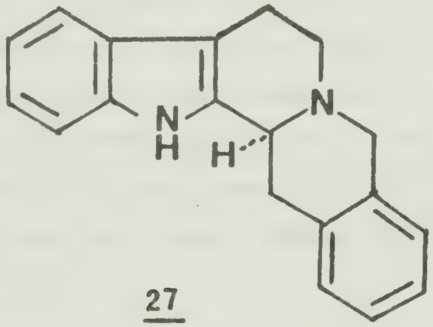
Le tableau ci-dessous indique les alcaloïdes isolés à partir de ces deux espèces:

O. seveneti	écorces	Ochrolifuanine "A" alcaloïde 312	28a	M^+= 438
	feuilles	Descarbométhoxydihydrogambirtannine	27	274
O. brevituba	feuilles	Ochrolifuanine "A"	28a	438
		Ochrolifuanine "B"	28b	438
		Descarbométhoxydihydrogambirtannine	27	274

Descarbométhoxydihydrogambirtannine: 27

Cet alcaloïde a un poids moléculaire de 274 (SM) correspondant à une formule brute $C_{19}H_{18}N_2$ $(\alpha)_{578}$ = - 254°. Son spectre UV dans l'éthanol en milieu neutre présente des maximums d'absorbtion à 226 (4,27), 273 (3,55), 283 (3,55), 291 (3,47). Le spectre de RMN montre l'absence de groupes C-méthyle, C-éthyle, N-méthyle, méthoxyle ou carbométhoxyle.

La structure de cet alcaloïde a été récemment publiée (38) par N. PEUBE LOCOU après son isolement chez O. miana et O. "lifuana". La structure 27 lui a été attribuée:



27

Alcaloïde 312

7 mg ont été isolés ce qui ne permet pas une étude structurale approfondie. Cependant il vient d'être isolé par le Pr. J.L. POUSSET d'une Rubiacée (Nauclea latifolia) et la détermination de sa structure est en cours.

La composition alcaloïdique s'avérant voisine de celle des O. miana, oppositifolia et confusa la place d'O. seveneti et d'O. brevituba dans la section Echinocaryon ne fait aucun doute.

Ochrosia silvatica Daniker.

Ochrosia silvatica Dän. (10) est un arbuste ou un petit arbre à feuilles lancéolées membraneuses. Les inflorescences sont courtes, axillaires. Les fleurs, blanc ivoire, ont une corolle à lobes plus courts que le tube, des carpelles unis par le style donnant deux drupes divergentes à mésocarpe non fibreux comprimées et ailées sur les deux tiers supérieurs.

En 1970 COSSON (39) isolait des écorces de tronc trois alcaloïdes: l'ellipticine 17, l'isoréserpiline 2 et l'apparicine 16. Cette espèce qui n'avait pas été classée par PICHON semble donc, de par sa composition chimique,se rapprocher d'O. balansae comme le laissait prévoir ses caractères botaniques. Pour le confirmer il était intéressant de procéder à une détermination des constituants alcaloïdiques des feuilles de cette espèce.

L'extraction est conduite selon le procédé général, le rendement en alcaloïdes totaux est de 0,25%; une chromatographie sur colonne d'alumine permet d'isoler:

I)- Isoréserpiline 2 en assez faible quantité (de l'ordre de 0,03 g/kg)

2)- Ellipticine 17 alcaloïde majoritaire (0,5 g/kg)

3)- Méthoxy-9 ellipticine 18 éluée en grande partie avec l'ellipticine, elle est environ dix fois moins abondante que cette dernière.

Les feuilles ont donc une composition voisine de celle des écorces. Cette composition est très caractéristique des Ochrosia appartenant à la section Lactaria.

Chapitre IV

Chimiotaxinomie du genre Ochrosia.

Les résultats obtenus au cours de ce travail, joints aux travaux effectués précédemment ou simultanément par d'autres chercheurs permettent - quinze espèces ayant été étudiées - de dégager les relations qui existent entre la classification botanique selon PICHON (5) et la composition chimique des espèces du genre Ochrosia.

Le genre Ochrosia ne renferme que des alcaloïdes de type indolique.

A quelques exceptions près les espèces étudiées possèdent des alcaloïdes du groupe du 6 H pyrido (4,3-b) carbazole (ex: l'ellipticine 17). Ceci confirme l'homogénéité du genre Ochrosia et fait penser qu'il n'est pas nécessaire, comme certains auteurs l'ont d'abord pensé (KOIDZUMI (2) MARKGRAF (3)) de le scinder en deux genres distincts.

Les espèces à fruits excavés (section Lactaria Pichon) contiennent l'ellipticine 17 et ses dérivés (sauf O. poweri) souvent associés aux alcaloïdes du type corynanthe (réserpine 25, poweridine 26 etc..).

Les espèces à fruits fibreux (section Echinocaryon Pichon) sont caractérisées par la présence d'alcaloïdes résultant de la condensation du dihydro-18,19 corynanthéal et de la tryptamine, c'est-à-dire les ochrolifuanines A et B. La descarbométhoxydihydrogambirtannine est également assez constante dans cette section.

Ainsi la distinction par les caractères du mésocarpe du fruit des nombreuses espèces du genre est-elle corroborée par la structure des alcaloïdes extraits.

Pour les espèces nouvelles ou non classées par PICHON la composition chimique n'est pas en désaccord avec les caractères botaniques qui rapprochent O. silvatica de la section Lactaria et O. seveneti et brevituba de la section Echinocaryon (O. silvatica: ellipticine 17, isoréserpiline 2... O. seveneti et brevituba: Ochrolifuanines A B 28 a b...).

Il ne semble pas qu'il y ait de relations fondamentales entre l'écologie de ces espèces et leur composition alcaloïdique (en ce qui concerne les espèces néo-calédoniennes tout au moins). Ainsi, dans la section Lactaria, O. elliptica Labill., plante croissant sur alluvions coralliens n'est pas très différent quant à sa composition chimique de l'O. mulsanti Montr. espèce arbustive croissant sur maquis péridotitique. De la même façon dans la section Echinocaryon O. confusa Pichon et O. miana H. Bn. ex Guill. sont très voisins dans leur composition bien que d'habitats très différents (respectivement sur calcaire madréporique et sur sol péridotitique).

Certaines espèces du genre Ochrosia contiennent des alcaloïdes du type hétéroyohimbane comme la réserpiline 3, l'isoréserpiline 2, l'aricine 1, la réserpinine 5 et l'isoréserpinine 4 extraits de nombreux Rauwolfia (58), ce fait est en accord avec l'appartenance botanique des genres Ochrosia et Rauwolfia à la tribu des Rauwolfiées.

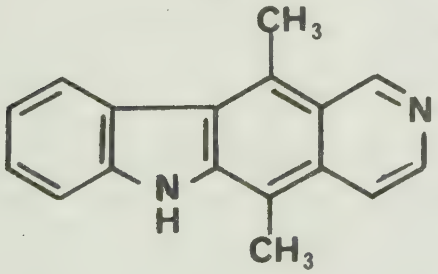
Ces alcaloïdes de type hétéroyohimbane ont été également isolés de quelques espèces du genre Aspidosperma.

A. discolor	réserpiline	isoréserpiline	(59)
A. oblongum	"	"	(60)
A. marcgravianum	aricine		(61)
A. auriculatum	réserpinine		(51)

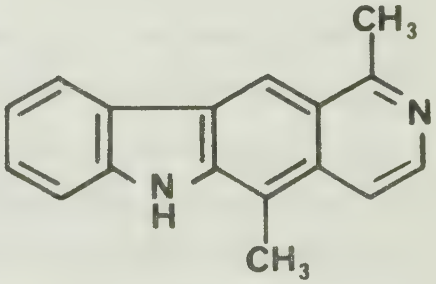
D'autres alcaloïdes sont communs aux genres Ochrosia et Aspidosperma. C'est le cas de la carapanaubine 9 (A. carapanauba) isolée aussi du Rauwolfia vomitoria avec la rauvoxine 8 (56) (57). L'ellipticine 17 a été isolée d'A. subincanum (50) (62) ainsi que la dihydro-1,2 ellipticine 19 (50). Le méthoxy-10 dihydrocorynanthéol 12 est isolé lui d'A. discolor (59). La réserpine, quant à elle, est largement répandue parmi les Plumieroïdées: Rauwolfia, Voacanga, Vallesia, Alstonia (58).

Les points communs avec le genre Aspidosperma n'ont rien de surprenant, les Alstoniées (tribu à laquelle appartient le genre Aspidosperma) étant immédiatement à côté des Rauwolfiées, tribu qui englobe les Ochrosiinées et les Rauwolfinées.

On note toutefois une différence entre les genres Ochrosia et Aspidosperma. En effet s'ils sont tous les deux caractérisés par la présence de dérivés du 6 H pyrido (4,3-b) carbazole, il n'existe dans le genre Ochrosia que des dérivés diméthylés en 5 et 11 (17 par exemple) mais aucun des dérivés diméthylés en 4 et 11 (type olivacine) caractéristiques du genre Aspidosperma.



17



40

Remarque: en examinant le tableau I on note que chez O. oppositifolia les résultats diffèrent selon les auteurs, en effet la méthoxy-9 ellipticine 18 isolée par BUZAS (35) n'a pas été retrouvée lors d'une étude plus complète (37). Par ailleurs SVOBODA (15) signale que O. borbonica a été souvent considéré comme synonyme de O. oppositifolia; on peut donc douter de l'identité du premier échantillon étudié.

☆ ☆ ☆

CONCLUSION

L'intérêt que porte notre laboratoire aux plantes de Nouvelle Calédonie nous a conduit à rechercher et à déterminer les composants alcaloïdiques de six espèces du genre Ochrosia.

Cette recherche a permis d'isoler cinq alcaloïdes nouveaux, dont la structure a été établie.

Ce travail portant le nombre des espèces étudiées à quinze, il a été possible d'envisager une approche de la chimiotaxinomie du genre aboutissant aux conclusions suivantes:

- l'homogénéïté du genre, dont on peut faire un véritable taxon, se trouve confirmée;
- la division du genre faite par Pichon en sections Lactaria et Echinocaryon est corroborée par des différences chimiques significatives;
- la présence d'alcaloïdes communs à d'autres genres souligne les relations botaniques à l'intérieur de la même sous famille des Plumiéroïdées.

☆
☆ ☆

DEUXIÈME PARTIE

ALCALOÏDES DU
CRIOCERAS DIPLADENIIFLORUS (STAPF) K.SCHUMANN
APOCYNACÉES

Chapitre I

Généralités

Description botanique.

C'est en 1897 que PIERRE (63) décrivit un nouveau genre d'Apocynacées qu'il dénomma *Crioceras* rappelant ainsi, par l'étymologie de ce nom, l'allure du fruit présentant, comme une tête de bélier, des cornes divergentes recourbées. Le type du nouveau genre est le *Crioceras longiflorus* Pierre. En 1900, K. SCHUMANN rapporte au genre *Crioceras* une espèce décrite en 1894 sous le nom de *Tabernaemontana dipladeniiflorus* (Stapf) K. Schumann et tente d'en préciser les différences avec *Crioceras longiflorus*; pour lui, comme plus tard pour PICHON (64) cette seconde espèce resta imparfaitement connue.

Une étude récente (65) a montré que l'espèce de STAPF est sans aucun doute identique à celle de PIERRE et que c'est donc le nom spécifique créé par STAPF qui doit être conservé. Le genre *Crioceras* a été placé par PICHON (64) dans la tribu des Tabernaemontanoidées.

Il n'avait à ce jour fait l'objet d'aucune étude chimique.

DESCRIPTION BOTANIQUE.

Crioceras dipladeniiflorus, espèce sciaphile, se rencontre soit par pieds isolés soit par petits peuplements disséminés; c'est

un arbuste ou un petit arbre atteignant 6-8 m.

Les feuilles, opposées décussées ont un limbe glabre, vert, de 13-25 x 5-11 cm; L'inflorescence pauci ou uniflore est une cyme sessile ordinairement appauvrie. Le pédoncule de second ordre est pendant et porte deux énormes préfeuilles disposées en un involucre semblable à un gros cocon vert foncé.

Le calice comprend cinq sépales libres, inégaux; la corolle qui atteint facilement 18 cm de long a un tube droit mesurant jusqu'à 10 cm; les lobes , recouvrant vers la gauche dans le bouton, sont étalés rotaçés à l'anthèse.

Le fruit possède deux méricarpes concrescents à la base puis divergents. Les graines sont nombreuses, ellipsoïdes.

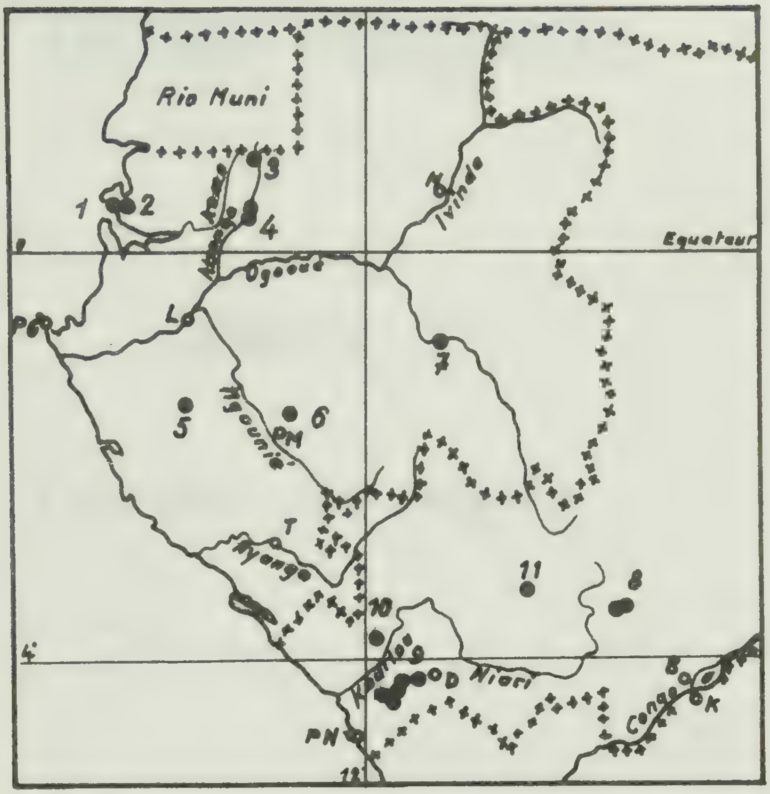
ORIGINE GEOGRAPHIQUE.

Le Crioceras dipladeniiflorus est connu au Gabon depuis longtemps puisque les premières récoltes de SOYAUX datent de 1881 et celles du R.P. KLAINE de 1896, toutes les deux en provenance des environs de Libreville, région d'où la plante a totalement disparue (défrichements, urbanisation). Cette espèce a été récoltée depuis en différents endroits du Gabon (cf. carte: LE TESTU, HALLE).

Tous les échantillons étudiés au cours de ce travail ont été récoltés en République Populaire du Congo où le premier peuplement a été découvert en 1967. Les échantillons analysés proviennent essentiellement des zones forestières du sud ouest: forêts de Bangou et du Mayombe; ils sont référencés dans l'herbier du centre O.R.S.T.O.M. de Brazzaville.

Dans un premier temps des échantillons correspondants à chaque lieu de récolte ont été prélevés et analysés tant du point de vue qualitatif que quantitatif. Cette étude a ainsi fait apparaitre des variations en fonction du lieu et de l'époque de la récolte; les résultats détaillés de cette étude ainsi que les conclusions qu'il convient d'en tirer seront exposés au chapitre VI.

Ces variations intervenant surtout sur le plan quantitatif, les différents lots ont été réunis de façon à permettre un isolement en quantité suffisante de chacun des alcaloïdes présents dans la plante.



Distribution du Crioceras dipladeniiflorus

1- récoltes de Klaine à Libreville; 2- Soyaux à Sibang; 3 et 4- N. Hallé, Médouneu et haut Abanga; 5- Le Testu à Agouma; 6- Le Testu à l'est de Mouila; 7- Le Testu à Lastoursville; 8- Farron et P. Sita en forêt de Bangou; 9- F. Hallé, A. Bouquet et P. Sita à Dimonika et Mvouti à l'ouest de Dolisie; 10- P. Sita au N.E. de Kakamoeka; 11- P. Sita dans la vallée de la Bouenza.

☆ ☆

TRAVAUX PERSONNELS.

Chapitre II

Ecorces de racines

ISOLEMENT DES ALCALOIDES.

Pour tous les lots étudiés et pour les différents organes la méthode générale d'extraxtion mise en oeuvre a été la suivante:

La poudre de plante, alcalinisée par l'ammoniaque est extraite au chlorure de méthylène. La phase chlorométhylénique est ensuite extraite par une solution normale d'acide chlorhydrique. La solution de chlorhydrates, alcalinisée et extraite au chloroforme, fournit une première quantité d'alcaloïdes constituant la fraction A.

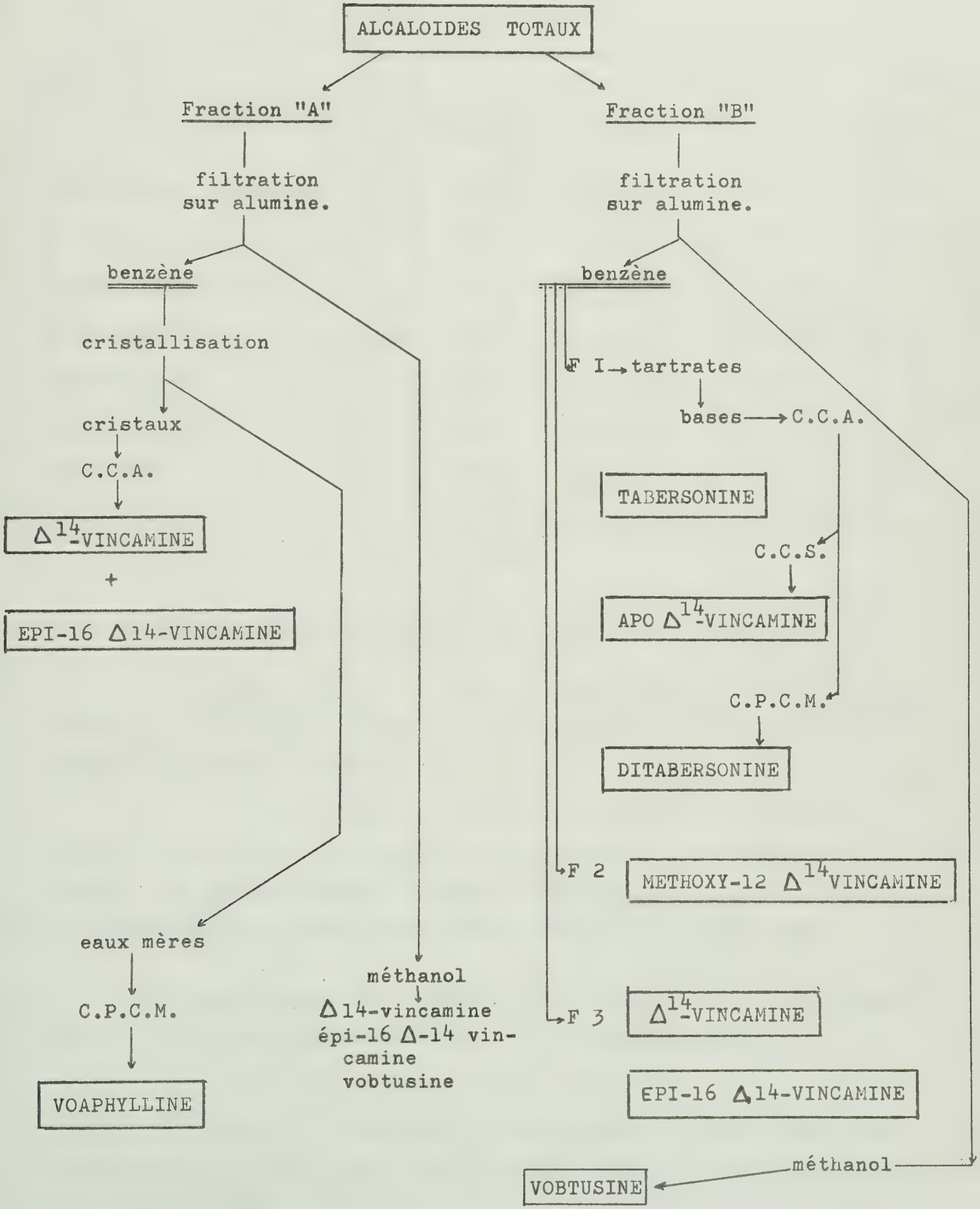
La solution chlorométhylénique contenant encore des alcaloïdes est diluée par un grand volume d'éther et de nouveau épuisée par l'eau acide; cette seconde extraction permet d'obtenir une nouvelle quantité d'alcaloïdes qui constitue la fraction B.

En ce qui concerne le fractionnement des alcaloïdes, il a été fait appel aux procédés classiques de chromatographie sur colonne de silice et d'alumine et de chromatographie préparative sur plaques de gel de silice. L'emploi de la filtration moléculaire sur gel de Sephadex a également été utile pour mener à bien la séparation et la purification des alcaloïdes. Le Tableau VI indique le schéma général d'isolement.

TABLEAU VI

Isolement des alcaloïdes du Crioceras dipladeniiflorus.

écorces de racines



Dans les écorces de racines huit alcaloïdes ont été isolés (73); la liste de ces alcaloïdes ainsi que leurs principales constantes physiques figure dans le Tableau VII.

alcaloïde	n°	M^+	formule brute	(α)	P.F.
Δ14- vincamine	46	352	$C_{21}H_{24}O_3N_2$	+116° (1)	218°
épi-16 Δ14- vincamine	47	352	$C_{21}H_{24}O_3N_2$	+30° (1)	185°
méthoxy-12 Δ14-vincamine	50	382	$C_{22}H_{26}O_3N_2$	+96° (1)	210-211°
apo Δ14- vincamine	51	334	$C_{21}H_{22}O_2N_2$	+150° (1)*	-
tabersonine	49	336	$C_{21}H_{24}O_2N_2$	-310° (2)	196° (Cl^-)
voaphylline	48	296	$C_{19}H_{24}O_2N_2$	+28°*	164-166°
ditabersonine	52	670	$C_{42}H_{46}O_4N_4$	-71 (1)*	-
vobtusine	53	718	$C_{43}H_{50}O_6N_2$	-337 *	302°

* à 578 nm (1) $CH\ Cl_3$ (2) MeOH

Trois de ces alcaloïdes ont une constitution déjà élucidée:

a)- voaphylline 48 : isolée à partir des eaux mères de cristallisationde la Δ14- vincamine et de l'épi-16 Δ14- vincamine, elle cristallise dans le méthanol

$$F: 164\text{-}166° \quad (\alpha)_{578} = +28° \ (CHCl_3) \quad M^+ = 296$$

l'examen des données spectrales permet de penser qu'il s'agit de la voaphylline 48 précedemment isolée du *Voacanga africana* (99); ceci a été confirmé par comparaison avec un échantillon authentique.

b)- tabersonine 49 : isolée de la fraction B des alcaloïdes totaux l'alcaloïde 49 cristallise à l'état de chlorhydrate

$$F: 196° \quad (\alpha)_D = -310° \quad M^+ = 336$$

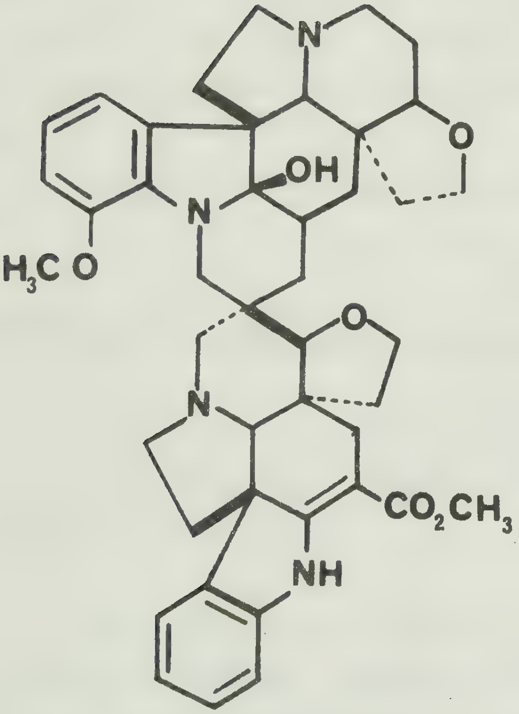
le spectre UV montre la présence d'un chromophore carbométhoxyméthylèneindoline. Ce fait , joint aux données fournies par les spectres de RMN et de masse, conduit à identifier le produit isolé à la tabersonine 49 (100), (spectres IR superposables, PF mélangés, Rf en CCM).

c)- <u>vobtusine</u> <u>53</u> : recristallisé dans le mélange méthanol chlorure de méthylène

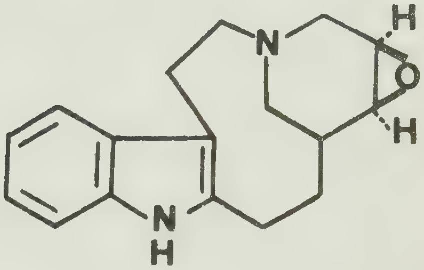
$$F : 302° \quad (\alpha)_{578} = -337° \quad M^+ = 718$$

l'alcaloïde <u>53</u> donne une coloration violette avec le réactif au sulfate cérique; ; par comparaison avec un échantillon de référence il a été identifié à la vobtusine (101).

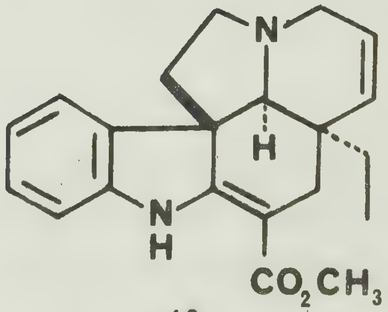
Les cinq autres alcaloïdes sont nouveaux.



<u>53</u>



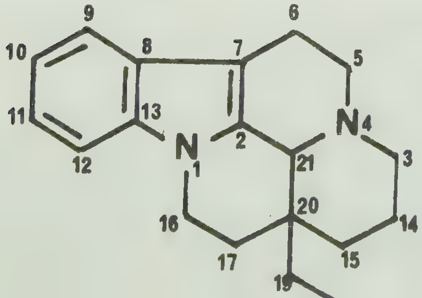
<u>48</u>

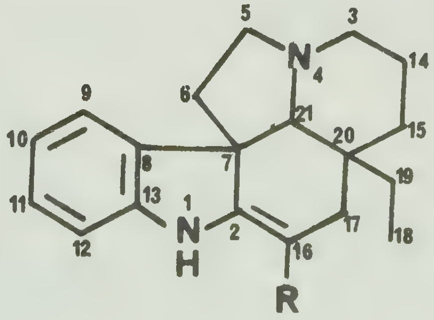


<u>49</u>

RAPPEL DE NOMENCLATURE.

La numérotation utilisée est celle préconisée par J. LE MEN et W.I. TAYLOR (97).





Δ^{14}-vincamine. 46

ISOLEMENT.

La Δ14- vincamine 46 est l'un des alcaloïdes majoritaires (74) (0,5% de la drogue sèche dans certains lots); elle syncristallise avec son épimère en 16: 47 et peut être séparée de celui ci par chromatographie sur colonne d'alumine. Un autre procédé est également utilisable: par filtration moléculaire sur gel de "Sephadex" du totum alcaloidique on obtient deux fractions: alcaloïdes "bis-indoliques" et alcaloïdes monomères, les deux épimères syncristallisent à partir de la fraction des alcaloïdes monomères et sont séparés comme précedemment.

La Δ14- vincamine cristallise dans l'acétone et le méthanol

F: 218° $(\alpha)_D$ = +116° ($CHCl_3$, c = 0,75).

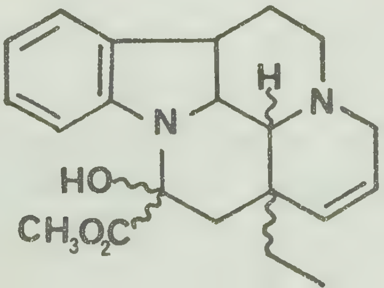
DETERMINATION DE LA STRUCTURE.

L'analyse centésimale conduit à adopter la formule brute $C_{21}H_{24}O_3N_2$ qui est confirmée par spectrométrie de masse (pic moléculaire à m/e 352).

Le spectre UV enregistré dans l'éthanol montre des maximums d'absorption à [λnm, (logε),] : 222 (4,49), 270 (3,93), 279 (3,88) et 289 (3,72), caractéristiques de la présence d'un chromophore indolique.

L'étude du spectre IR montre la présence d'un groupement carbométhoxyle non conjugué (bande à 1750 cm^{-1}).

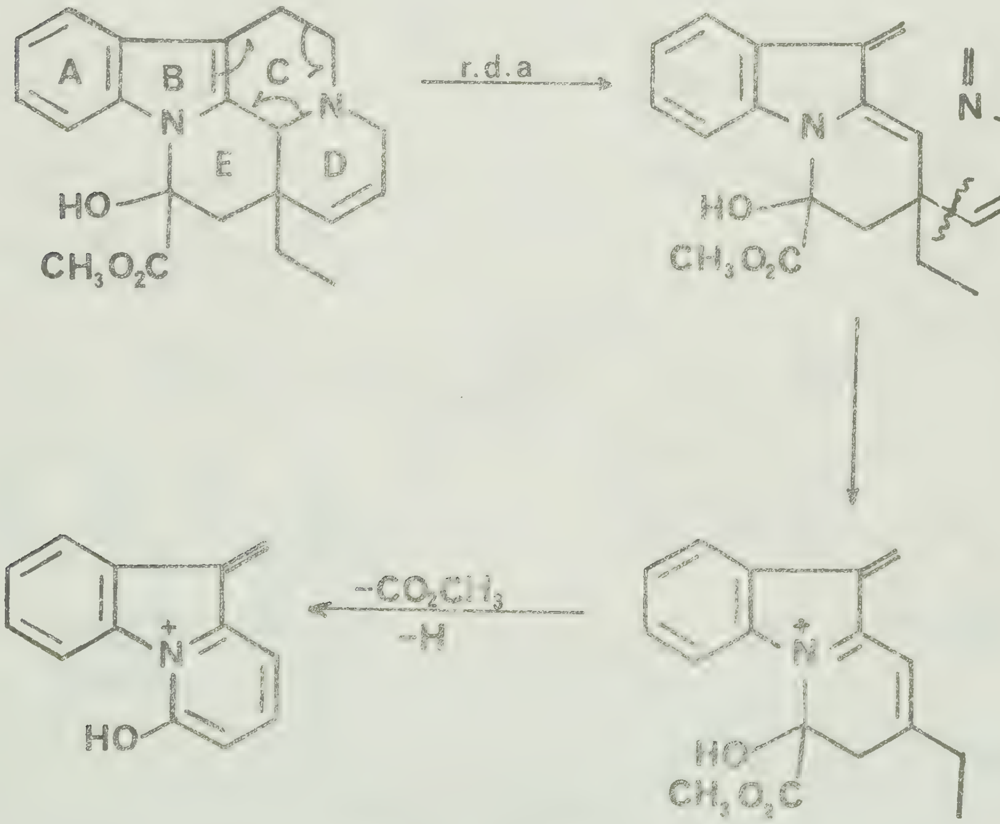
Le spectre de masse indique un type de fragmentation semblable à celui de la vincamine 56 (67) et ressemble beaucoup aux spectres des Δ14- vincine 54 et épi-16 Δ14- vincine 55 (66). Il est en accord avec la structure 46.



Les fragments indoliques s'observent à m/e 143 et 144 confirmant ainsi la non substitution du noyau indole (48) que permettait de prévoir le spectre UV. Les pics à m/e 351 et 293 correspondent respectivement à la perte d'un proton et à celle d'un groupe carbométhoxyle.

Les pics à m/e 337 ($M-CH_3$), 323 ($M-C_2H_5$), 319 ($M-CH_3-H_2O$) et 305 ($M-C_2H_5-H_2O$) sont en accord avec la présence de la chaîne éthyle et d'un groupement hydroxyle dans la molécule.

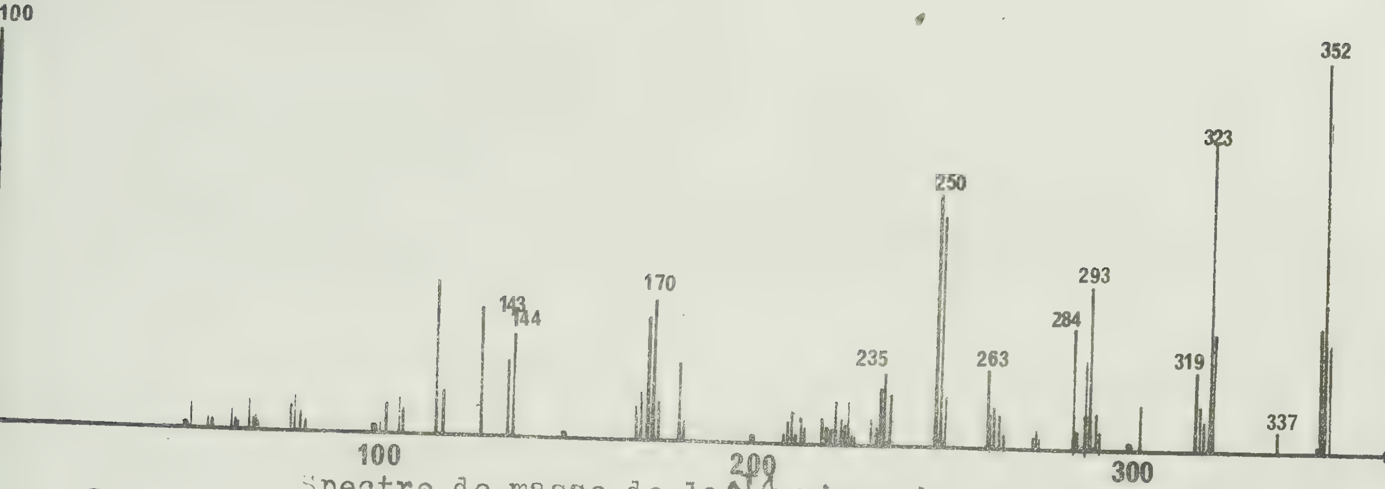
Il est particulièrement intéressant de remarquer la présence d'un pic à m/e 284 (M-68) qui résulte de la rupture du noyau C par un mécanisme de "rétro Diels Alder" (r.d.a.) suivi de la rupture de la liaison C 15 -C 20. La présence de ce pic commun à 46 et à la vincamine 56 (67) permet de placer la double liaison supplémentaire dans le cycle D.



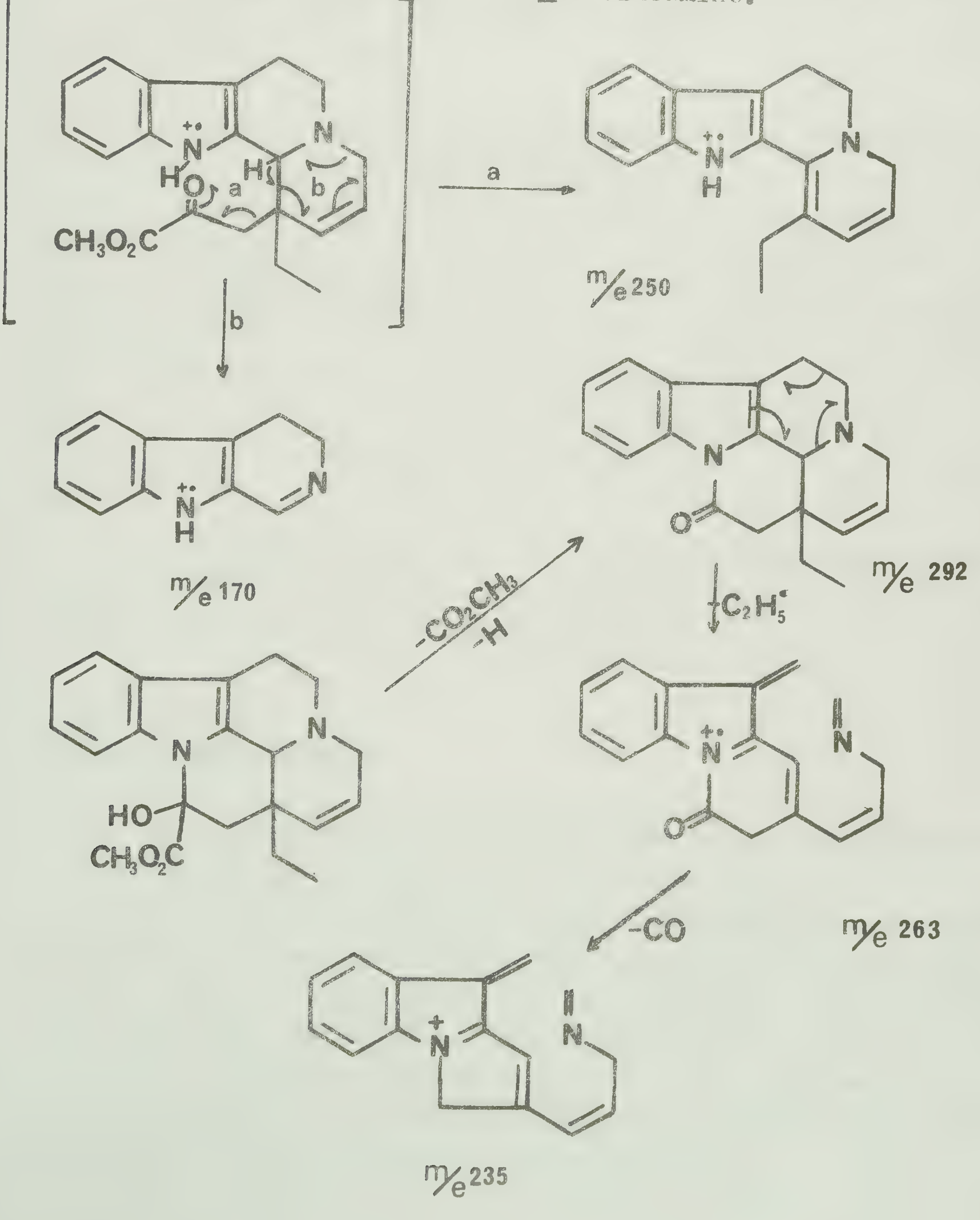
m/e 224

m/e 284

La genèse des ions à m/e 250 et 170 peut s'expliquer par les fragmentations représentées sur le Tableau VIII.



Spectre de masse de la Δ^{14}-vincamine.



La perte d'un carbométhoxyle, suivie de l'expulsion d'un hydrogène explique la formation du fragment 292 (Δ14- éburnamonine) qui conduit lui même après perte de C_2H_5 à l'ion m/e 263. L'ion m/e 224 résulte de la perte concommitante du groupe carbométhoxyle et d'un atome d'hydrogène à partir de l'ion m/e 284.

Le spectre de RMN confirme la présence d'une chaine éthyle (t 1,01 ppm J=7,5 Hz), d'un groupement carbométhoxyle (s 3,87 ppm), d'un noyau indole non substitué (m de quatre protons aromatiques: 7,1 à 7,45 ppm); le proton porté par le carbone 21 apparait sous la forme d'un singulet à 4,1 ppm.

On observe en outre, dans la région des protons oléfiniques un système A B (A: 5,80 ppm, B: 5,60 ppm, J_{AB} = 10 Hz) dont la partie B est perturbée par un couplage supplémentaire. Par irradiation à 5,6 ppm on constate la simplification d'un multiplet situé à 3,08 ppm et dont l'intégration montre qu'il est du à deux protons. Inversement l'irradiation à 3,08 ppm fait apparaitre un système A B pur à 5,60 et 5,80 ppm. Ce système témoigne de l'enchaînement:

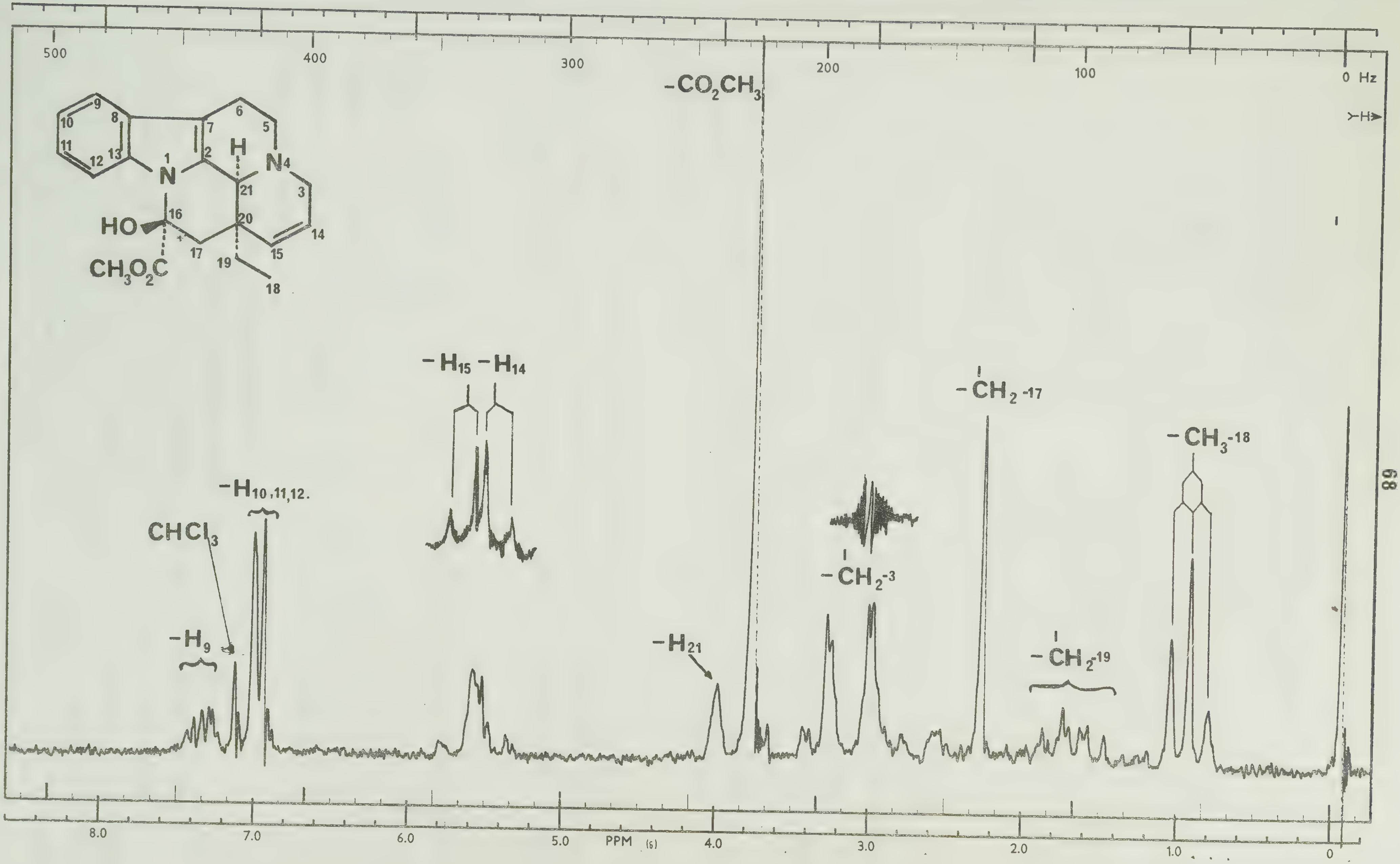
$$-C-\underset{H_A}{\underset{|}{C}}=\underset{H_B}{\underset{|}{C}}-CH_2-X$$

La position à 3,08 ppm du CH_2 en α de la double liaison ne peut s'expliquer que par l'influence de l'atome d'azote voisin; ceci conduit à placer la double liaison en 14— 15.

ETUDE CONFORMATIONELLE.

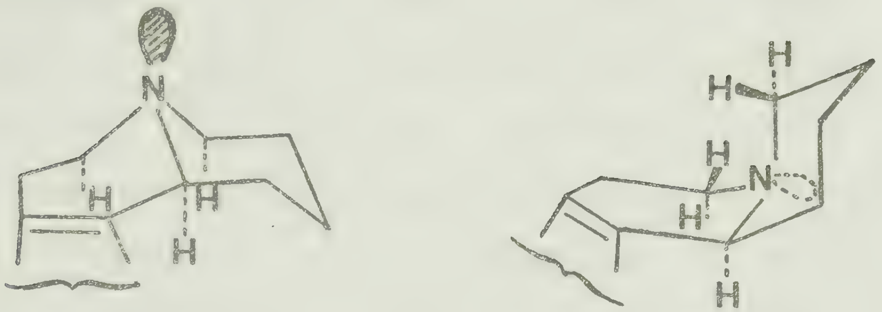
Si la structure plane 46 est acquise il convient maintenant de préciser la configuration en C-16, C-20 et C-21.

Il a été montré (68,69,70) qu'il était possible de déterminer la stéréochimie des indoloquinolizidines par examen de leurs spectres IR et de RMN. En effet les indoloquinolizidines de type A ("trans") possédant trois protons trans diaxiaux par rapport au doublet libre de l'azote N_b (portés par des atomes de carbone adjacents à cet azote) présentent en IR une série de plusieurs bandes, dites bandes de Bohlmann, dans la région de 2700 à 2900 cm^{-1}.



Spectre de RMN de la Δ^{14}-vincamine

Les indoloquinolizidines de type B ("cis") ne présentent elles aucune bande dans cette région.



A "TRANS" B "CIS"

La RMN permet également de différencier ces deux types (68,69 70) les dérivés "trans" quinolizidine présentent, pour le proton en C 21 un signal entre 3,1 et 3,8 ppm; ce signal apparait à champ plus faible pour les composés "cis" quinolizidine de type B (dans un tel système, le proton en 21, en position cis par rapport au doublet libre de l'azote, subit, de la part de celui ci, un déplacement diamagnétique de 0,5 ppm).

L'absence de bandes de Bohlmann dans le spectre IR de <u>46</u> et la présence à 4,1 ppm du singulet du proton C 21 H dans son spectre de RMN permettent de proposer pour <u>46</u> la structure d'une "cis" quinolizidine.

Sans anticiper sur le chapitre suivant où seront discutées de façon détaillée les variations de la position des signaux de RMN en fonction de l'épimérie en 16, on peut remarquer que la position du signal du groupe carbométhoxyle à 3,87 ppm - c'est à dire vers les champs faibles - laisse présager une configuration identique à celle de la vincamine:

- groupe OH β pseudo-axial
- groupe $COOCH_3$ α pseudo-équatorial

L'examen d'un modèle moléculaire permet de constater que le groupement carbométhoxyle est en dehors de la zone d'influence du noyau aromatique. Dans la configuration inverse (OH α pseudo-équatorial) le carbométhoxyle rentre dans la zone d'influence du noyau aromatique et de ce fait est fortement déplacé vers les champs forts (3,38 ppm

pour l'épi-16 Δ14- vincamine 47).

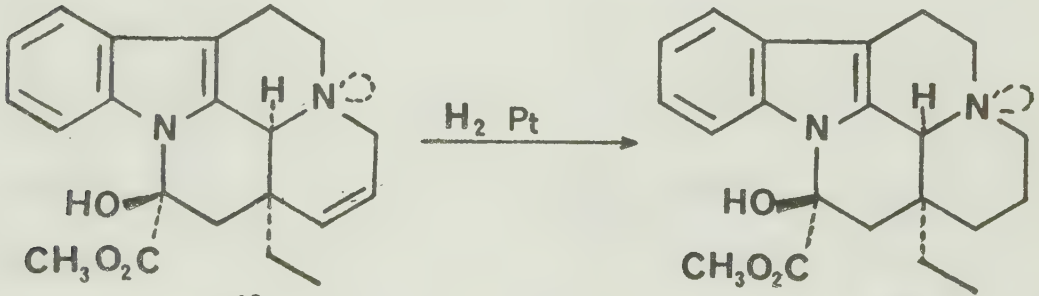
Ce phénomène est très général

vincamine	56	3,82 ppm	(67)
épi-16 vincamine	57	3,70 ppm	(71)
vincine	58	3,84 ppm	(72)
épi-16 vincine	59	3,79 ppm	
Δ14- vincine	54	3,83 ppm	(66)
épi-16 Δ14- vincine	55	3,38 ppm	(66)

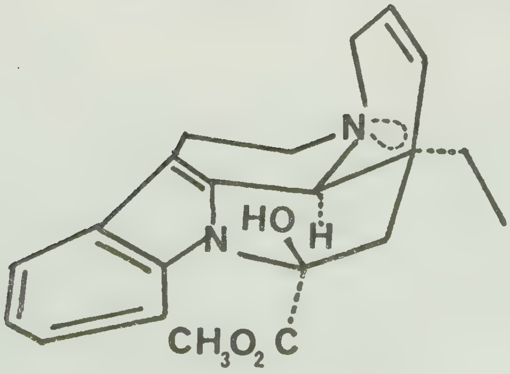
Confirmation de la structure , corrélation avec la vincamine 56.

Par hydrogénation catalytique (platine Adams, éthanol, acide tartrique) 46 conduit à la vincamine 56 identifiée par comparaison avec un échantillon authentique.

Ceci confirme la structure 46 pour la Δ14- vincamine (OH β pseudo-axial, $COOCH_3$ α pseudo équatorial, H-21α, éthyle-20α).



46 56



46

Epi-16 Δ^{14}-vincamine. 47

Cet alcaloïde existe en quantité importante dans les écorces de racines (à peu près aussi abondant que son épimère) il cristallise avec ce dernier et on le sépare de celui ci par chromatographie sur colonne d'alumine.

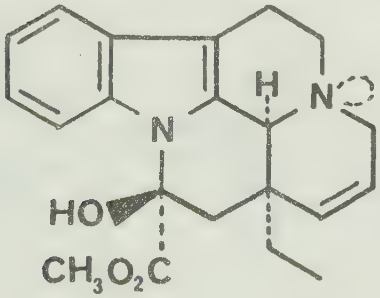
Cristallisé dans l'acétone

F: 185° $(\alpha)_D$ = +30° ($CHCl_3$, c=1,2).

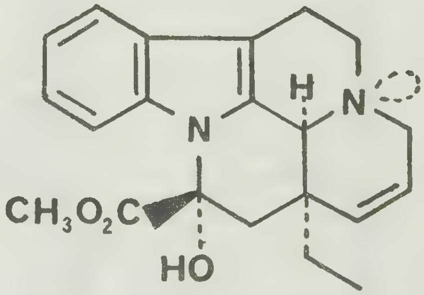
La formule brute: $C_{21}H_{24}O_3N_2$ confirmée par le spectre de masse -M^+ = 352 en fait un isomère de la Δ14- vincamine.

Le spectre de masse de 47 est en tous points semblable à celui de 46, mises à part de petites différences quant à l'intensité de certains pics. 46 et 47 sont donc des épimères.

L'épimérie entre 46 et 47 doit être au niveau du carbone 16: en effet sous l'action deshydratante de l'acide trifluoracétique on obtient dans les deux cas l'apo Δ14- vincamine 51 ce qui prouve que la configuration est la même -pour les deux alcaloïdes- au niveau des carbones 3 et 20.



46

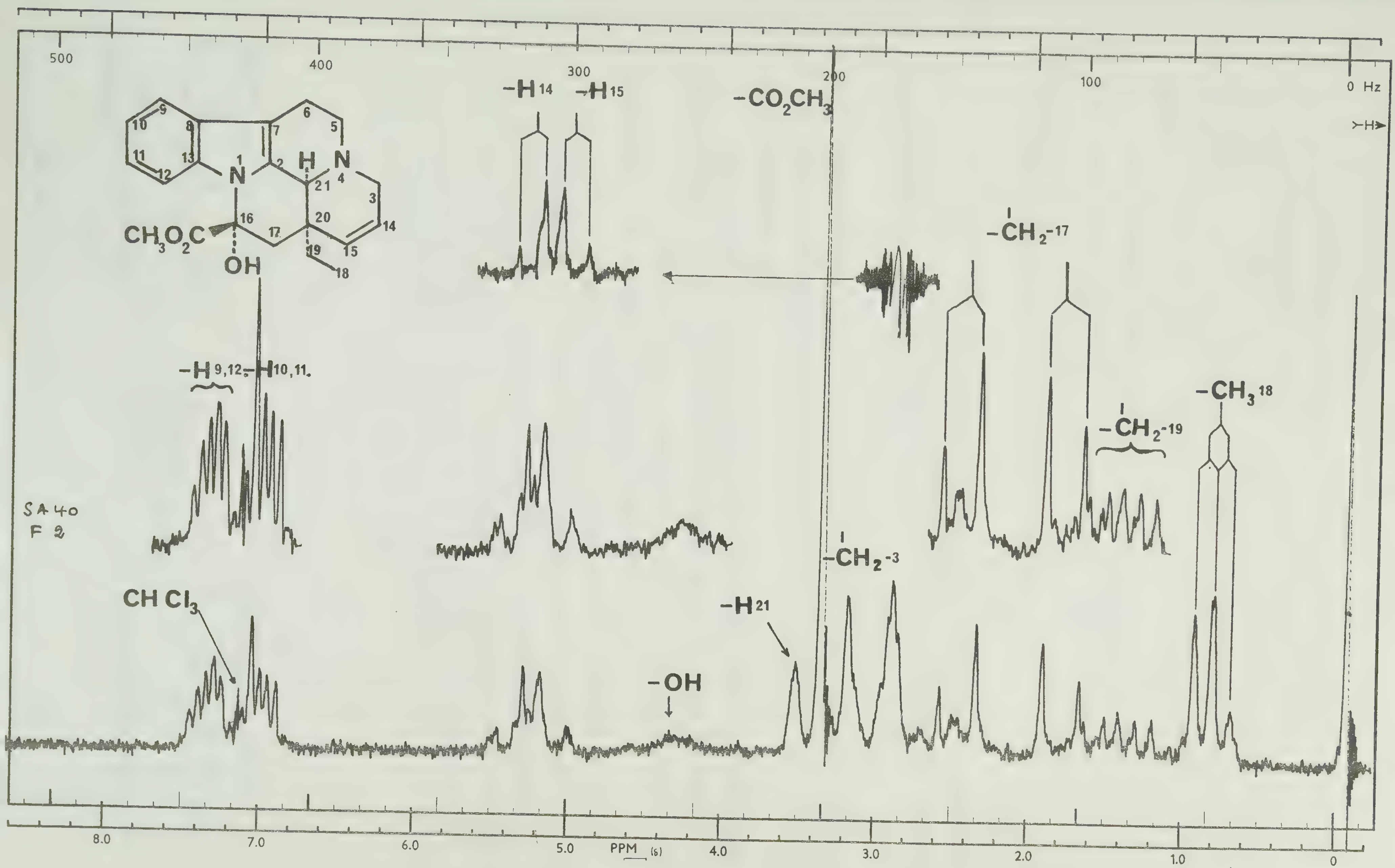


47

Cette épimérie en 16 entraine des modifications non négligeables du spectre de RMN:

- le carbométhoxyle est déplacé de 0,49 ppm vers les champs forts (dans la zone d'influence du benzénique)
- l'épimérisation en 16 entraine de la même façon un déplacement de 0,36 ppm pour le proton en 21: s 3,74 ppm

0,14 ppm pour H 14 et 0,56 ppm pour H 15 ainsi qu'un léger blindage des protons de la chaîne éthyle.



Spectre de RMN de l'épi 16 Δ^{14} vincamine

Une différence plus nette réside dans l'aspect du signal du aux deux protons portés par le carbone 17: dans le cas de l'épi-16 Δ14- vincamine 47, ces deux protons ont des déplacements chimiques différents ce qui se traduit par l'apparition d'un système A B (1,99 et 2,57 ppm J_{AB} = 14 Hz) alors que pour l'épimère 46 les deux protons apparaissent sous la forme d'un singulet.

Un phénomène analogue est observé pour la Δ14- vincine(s 2,32) et l'épi-16 Δ14- vincine (A B 1,90 et 2,50 ppm).

PROPRIETES DIFFERENTIELLES DES DEUX EPIMERES.

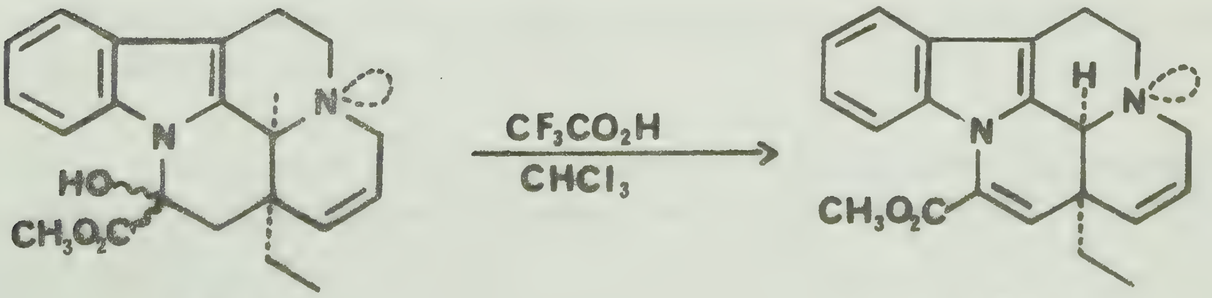
En dehors des différences d'ordre spectral, la Δ14- vincamine et son épimère en 16 peuvent être distingués en étudiant les vitesses respectives de deshydratation.

Traités par H_2SO_4, HCl ou mieux par CF_3COOH, 46 et 47 conduisent à un même dérivé dont l'étude spectrale indique qu'il s'agit de l'apo Δ14- vincamine 51.

La réaction peut d'ailleurs être suivie en RMN: immédiatement après la mise en solution dans un mélange $CDCl_3$ CF_3COOH on observe:

pour la Δ14- vincamine: un singulet à 3,70 ppm (carbo-méthoxyle), un singulet à 2,5 ppm (protons en 17)

pour l'épi-16 Δ14- vincamine: un singulet à 3,60 ppm (carbométhoxyle), un système AB à 2,2 et 2,7 ppm (protons en 17). Après un temps de contact, on observe par suite d'une deshydratation: apparition dans les deux cas d'un singulet à 6 ppm (proton oléfinique en 17)et d'un singulet à 4,03 ppm (carbométhoxyle α-β éthylénique), tandis que disparaissent progressivement les signaux à 2,5 et 3,7 ppm de 46 et ceux à 2,2 - 2,7 et 3,6 ppm de 47.



46 47 51

Réversibilité de la réaction.

Lorsque l'apo Δ14 vincamine 51 est traitée par le mélange acétone-HCl 4N à reflux (75), on obtient, outre une quantité résiduelle de produit de départ non transformé, un mélange en proportions sensiblement égales des deux épimères 46 et 47.

Apo Δ^{14}-vincamine. 51

Isolé de la fraction B des alcaloïdes totaux après filtration sur alumine et chromatographie sur alumine puis sur silice, cet alcaloïde n'a pu être obtenu cristallisé.

La base pure, amorphe, présente un pouvoir rotatoire de + 150° à 578 nm dans le chloroforme.

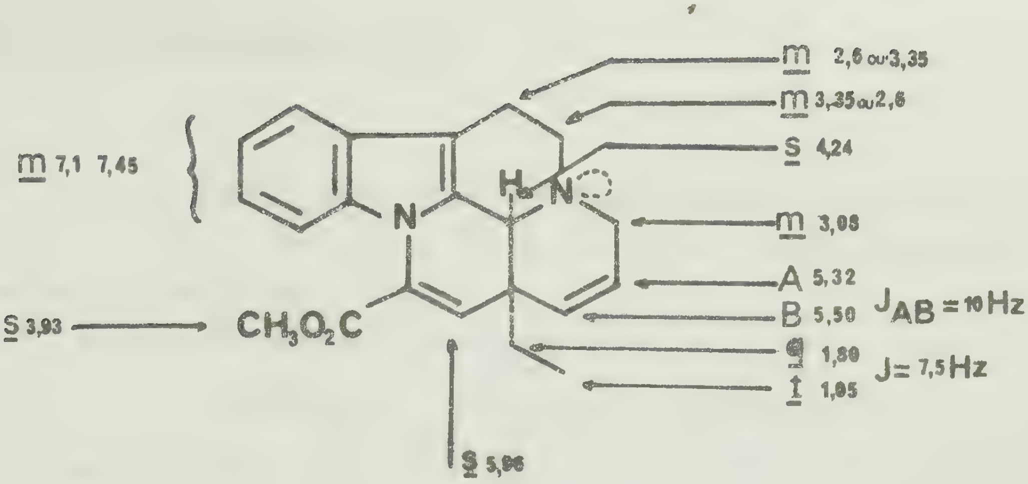
De formule brute $C_{21}H_{22}O_2N_2$ (M^+ = 334), elle a un spectre UV [λ nm, (log ε), EtOH]: 229 (4,56), 275 (4,14), 317 (3,90) voisin de celui de l'apo vincamine (76) et de celui de l'apo geissoschizine(77).

Une bande à 1730 cm^{-1} dans le spectre IR révèle l'existence d'un ester α-β insaturé.

Son spectre de RMN est voisin de ceux de la Δ14- vincamine et de son épimère: signaux d'un groupe carbométhoxyle (s 3,93 ppm), d'une chaîne éthyle (t 1,05 ppm J = 7,5 Hz), de deux protons oléfiniques (système AB 5,32 et 5,50 ppm J_{AB} = 10 Hz) et de quatre protons aromatiques (m 7,1 à 7,45 ppm).

On note l'absence du signal des deux protons en 17 de la Δ14-vincamine et la présence d'un singulet à 5,96 ppm correspondant à un proton oléfinique. Ces remarques permettent de penser que 51 est le produit résultant de la deshydratation de la Δ14- vincamine 46 ou de son épimère en 16 47.

Le spectre de masse est en accord avec la structure proposée: le pic le plus intense du spectre est situé à m/e 305 (perte de C_2H_5):



<u>51</u>

la rupture C 19- C 20 aisée chez l'éburnaménine (78) est ici encore plus facile du fait de la double activation allylique.

Un pic intense à m/e 266 résulte d'un rétro Diels Alder dans le cycle C; ce mécanisme fréquent chez les tétrahydro βcarbolines, s'accompagne ici d'une rupture de la liaison C 15 - C 20. Comme précédemment la double liaison bisustituée est donc là encore située dans le cycle D.

Si l'on note la présence de pics à m/e 319 et 305 (M-Me, M-Et) on constate l'absence des pics M-Me $-H_2O$ et M-Et $-H_2O$ ce qui confirme l'absence du groupe hydroxyle.

La preuve de structure est apportée par la comparaison des constantes et des spectres du produit isolé avec ceux du produit résultant de la deshydratation des deux épimères <u>46</u> et <u>47</u>.

L'apo Δ14- vincamine extraite du <u>Crioceras dipladeniiflorus</u> n'est pas un artefact.

Les conditions d'extraction sont en effet telles que l'on ne peut envisager une deshydratation de <u>46</u> ou de <u>47</u> au cours de la manipulation. Les deux épimères <u>46</u> et <u>47</u>, maintenus une centaine d'heures dans HCl N c'est à dire dans des conditions identiques à celles de l'extraction mais pendant une durée cinquante fois plus longue, ne sont en rien altérés (monotaches en CCM, pas d'apparition du signal à 5,96 ppm en RMN). Enfin l'apo Δ14- vincamine <u>51</u> existe dans la plante à une teneur non négligeable (plus de 1% des alcaloïdes totaux).

Méthoxy-12 Δ^{14}-vincamine. 50

Cet alcaloïde a été isolé avec un rendement d'environ 0,1% à partir du mélange des lots. Sa teneur varie considérablement selon les échantillons.

Il cristallise dans l'acétone

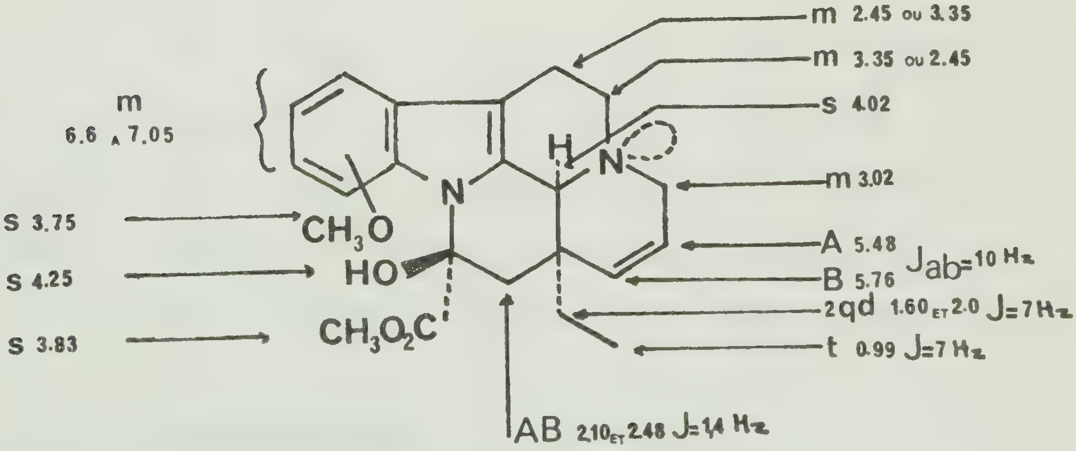
F: 210-211° $(\alpha)_D$ = +96° ($CHCl_3$, c=1).

Son spectre UV est très proche de ceux de la vincine 58 et de la Δ14- vincine 54 (66) [λnm, (logε), EtOH]: 228 (4,5), 271 (3,87), 286 (3,77) et 293 (3,68).

Les bandes d'absorption les plus intenses du spectre IR sont situées à 3500 et 1750 cm^{-1}: groupes hydroxyle et carbométhoxyle.

Le spectre de masse est pratiquement superposable à ceux de la Δ14- vincine et de son épimère (isolés du Craspidospermum verticillatum)(66). Les fragments comportant l'enchaînement indolique sont décalés de m/e = +30 alors que tous les autres demeurent inchangés, ce qui indique la présence d'un groupe méthoxyle sur le noyau A.

Le spectre de RMN est lui aussi en accord avec la structure d'une Δ14- vincamine possédant un groupe méthoxyle sur le noyau aromatique.



L'hydrogénation catalytique de 50 conduit à une méthoxy vincamine 60

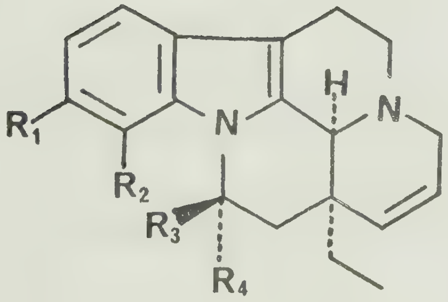
F: 185-186° $(\alpha)_D$ = +146° ($CHCl_3$, c = 0,9) M^+=384.

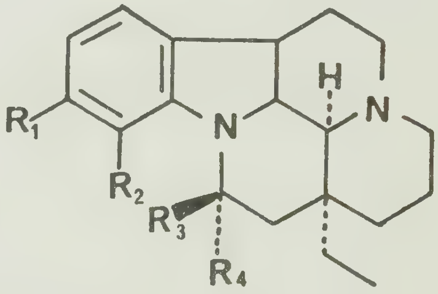
qui n'est ni la vincine 58 ni l'épi-16 vincine 59 .

L'alcaloïde isolé peut donc différer de la Δ14- vincine 54 ou de son épimère 55 par la position du groupe méthoxyle et / ou par la configuration au niveau des carbones 16, 20 et 21.

La position à 4,02 ppm du proton porté par le carbone 21 indique que la jonction des cycles C et D est la même que pour tous les dérivés cités ci-dessus, c'est à dire une jonction cis-quinolizidine. En outre le pouvoir rotatoire implique une position α pour la chaîne éthyle en 20.

La position du groupe méthoxyle et la configuration au niveau du carbone 16 seront étudiées successivement.





	R_1	R_2	R_3	R_4		R_1	R_2	R_3	R_4
46	H	H	OH	CO_2Me	56	H	H	OH	CO_2Me
47	H	H	CO_2Me	OH	57	H	H	CO_2Me	OH
54	OMe	H	OH	CO_2Me	58	OMe	H	OH	CO_2Me
55	OMe	H	CO_2Me	OH	59	OMe	H	CO_2Me	OH
50	H	OMe	OH	CO_2Me	60	H	OMe	OH	CO_2Me

POSITION DU GROUPE METHOXYLE.

Le spectre UV de 50 présentant avec celui de la Δ14- vincine des différences qui sont du même ordre que celles observées entre l'ibogaïne et la tabernanthine (79), on peut à priori envisager pour

l'alcaloïde 50 la structure d'une méthoxy-10 Δ14- vincamine cependant l'étude approfondie des spectres de RMN à 100 MHz et l'utilisation des complexes de terres rares montreront qu'il n'en est rien.

RAPPEL SUR LES PROPRIETES ET L'EMPLOI DES COMPLEXES DE TERRES RARES EN RESONANCE MAGNETIQUE NUCLEAIRE.

En RMN, les interactions de spin entre noyaux et électrons non appariés produisent notamment des variations de déplacements chimiques qui s'accompagnent de modifications des temps de relaxation, donc de la largeur des raies. Ces déplacements induits interviennent par conséquent en présence de complexes de métaux paramagnétiques.

Si les effets du paramagnétisme en RMN ont été étudiés depuis 1948 (80) il a fallu attendre les travaux de HINCKLEY (81) pour voir apparaître des réactifs succeptibles d'induire des déplacements importants sans élargissement notable des raies.

INTERET DES COMPLEXES DETERRES RARES.

Si les déplacements induits sont suffisamment importants, les systèmes fortement couplés ($\Delta\nu$/ J faibles) à constantes de couplage hyperfines, sont transformés en systèmes simples, ce qui rend le spectre facilement analysable.

De plus il est admis (82) - bien que cela soit controversé (83)- qu'une contribution de"contact" pour les déplacements des protons situés près du site de coordination est peu importante et que les déplacements induits sont dûs essentiellement à un mécanisme de pseudo contact (84 a,b ,85) c'est à dire qu'ils sont directement fonction de la distance entre le complexe métallique et le site du substrat engagé.

$$\frac{\Delta H}{H} = K \frac{(3 \cos^2 \Phi_n - 1)}{r_n}$$

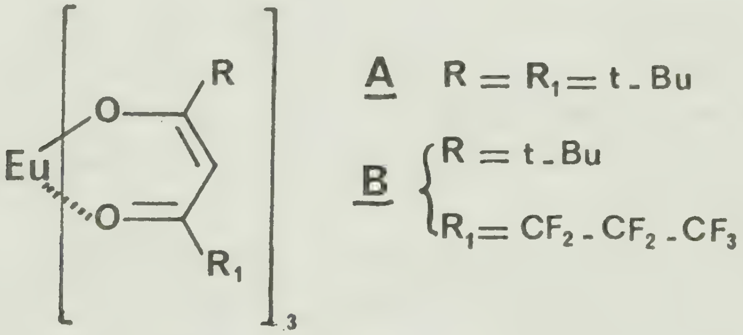
r_n = distance entre le métal et le proton N;

Φn = angle entre l'axe de symétrie principal du complexe et le vecteur distance r_n.

En conséquence on pourra utiliser les sels de terres rares non seulement pour déterminer les structures mais aussi pour des études conformationelles de molécules complexes (86 et références citées).

COMPLEXES UTILISES.

Dans la majorité des cas il s'agit du tris (dipivaloyl méthanate) d'europium A (88) en effet le temps de relaxation électronique de l'europium est très court (87) ce qui permet de préserver l'étroitesse des raies. RONDEAU et SIEVERS (89) en 1971 se fondant sur le fait que l'efficacité d'un complexe est conditionnée par son caractère acide de Lewis ont décrit le tris (heptafluoro-1,1,1,2,2,3,3 diméthyl-7,7 octanedionate-4,6) europium: Eu $(f.o.d.)_3$ B chez lequel le pouvoir



électro attracteur des atomes de fluor augmente l'acidité résiduelle du cation ce qui en fait un meilleur site de coordination pour les faibles donneurs. De plus Eu $(f.o.d.)_3$ est beaucoup plus soluble. Ces deux raisons ont conduit à choisir ce dérivé.

Fonctions susceptibles de former des composés d'addition: il a été montré (84a) que les fonctions pouvaient être classées dans l'ordre suivant:

$-NH > -OH > -C{=}O > -O- > CO_2R > -CN$

Dans le cas qui nous interesse la présence simultanée d'un hydroxyle et d'un carbométhoxyle font que, pour des concentrations élevées il y aura possibilité de participation des deux sites.

APPLICATION DES COMPLEXES DE TERRES RARES.

Depuis les résultats spectaculaires obtenus par HINCKLEY (81) la méthode a été appliquée à de nombreux composés (86 et références citées); dans le domaine des substances d'origine naturelle on peut citer: le camphre (90), les composés stéroidiques et les triterpènes (91), les enzymes (92), les hexopyrannosides (93).

APPLICATION DES PROPRIETES DE Eu $(f.o.d.)_3$ EN SERIE Δ14- VINCAMINE

Position du groupe méthoxyle de 50.

Dans tous les cas étudiés les spectres de RMN ont été enregistrés à 100 MHz avec des concentrations croissantes de Eu $(f.o.d.)_3$ et on étudie

-1- la simplification du système aromatique

-2- la variation $\delta = f\ (R)$ où R est le rapport en équivalent Eu $(f.o.d.)_3$ / substrat; c'est la comparaison des pentes des droites obtenues qui permet de placer sans ambiguité le groupe méthoxyle.

Pour pouvoir disposer d'éléments de comparaison, l'étude de l'influence de Eu $(f.o.d.)_3$ a porté sur les alcaloïdes suivants

Δ14- vincamine 46
épi-16 Δ14- vincamine 47
méthoxy-12 Δ14- vincamine 50
Δ14- vincine 54
épi-16 vincine 59

1) Δ14- vincamine 46, épi-16 Δ14- vincamine 47.

Pour 46 par exemple, le multiplet des protons 9,10,11,12, initialement resseré sur 0,35 ppm est étalé -pour R = 0,6- sur 5,3 ppm et l'on observe

2 t 7,0 et 7,45 ppm J = 4 Hz: H 10 et H 11;
2 d 8,3 et 12,3 ppm J = 4 Hz: H 9 et H 12;

ce système est caractéristique de quatre protons aromatiques vicinaux. Pour 47 les résultats obtenus sont identiques.

2) Δ14- vincine et épi-16 Δ14- vincine: 54 et 55

L'étalement du spectre est moindre et on observe par exemple

pour la Δ14- vincine <u>54</u>:

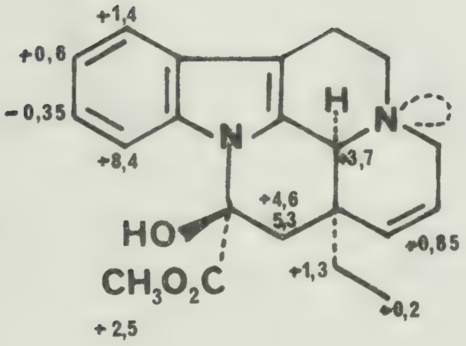
<u>d</u> 7,64 ppm (J = 9 Hz):H9;

<u>dd</u> 6,96 ppm (J = 9 Hz, J' = 2,5 Hz): H 10;

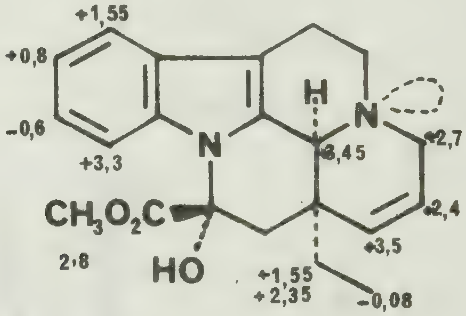
<u>s</u> épaissi 8,71 ppm: H 12;

un tel système indique bien un noyau benzénique 1,2,4 trisubstitué. Certes de tels résultats laissent deux possibilités pour placer le groupe méthoxyle de <u>54</u>: en 10 ou en 11. En fait la comparaison des déplacements enregistrés pour les alcaloïdes <u>46</u>, <u>47</u>, <u>50</u>, <u>54</u> et <u>59</u> (Tableaux IX et XI) ainsi que l'utilisation de l'effet N.O.E. confirme la structure méthoxy-11 de la Δ14- vincine et de son épimère.

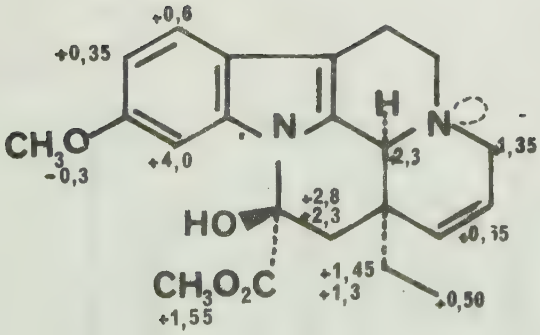
δ induits par Eu(f.o.d)$_3$ pour R=1.



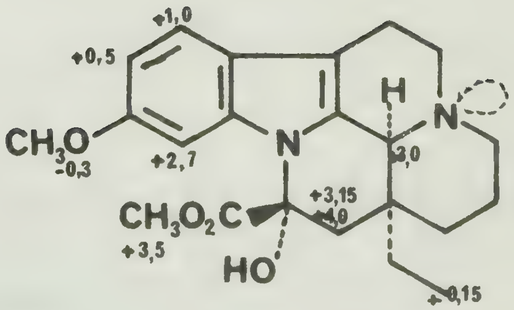
<u>46</u>



<u>47</u>



<u>54</u>



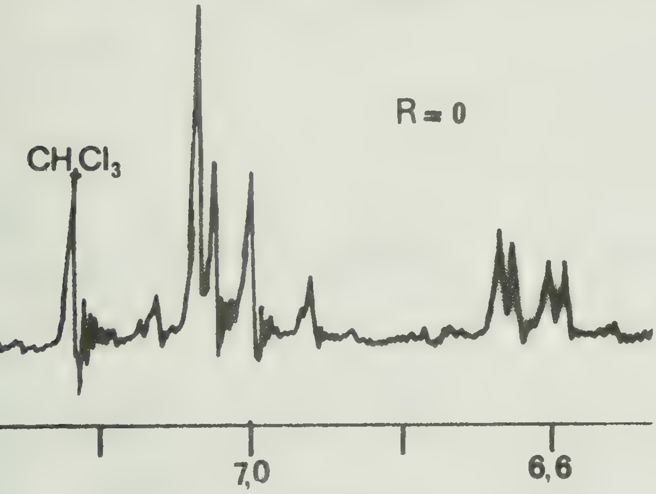
<u>59</u>

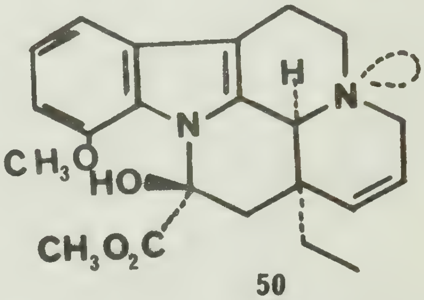
Méthoxy-12 Δ14- vincamine 50.

Les protons aromatiques étant différemment déplacés, respectivement de +1,05, +0,7 et +0,9 pour les protons 9, 10 et 11, cette région du spectre se simplifie et pour R = 0,55 un système du premier ordre apparaît, celui ci est caractéristique de trois protons aromatiques vicinaux:

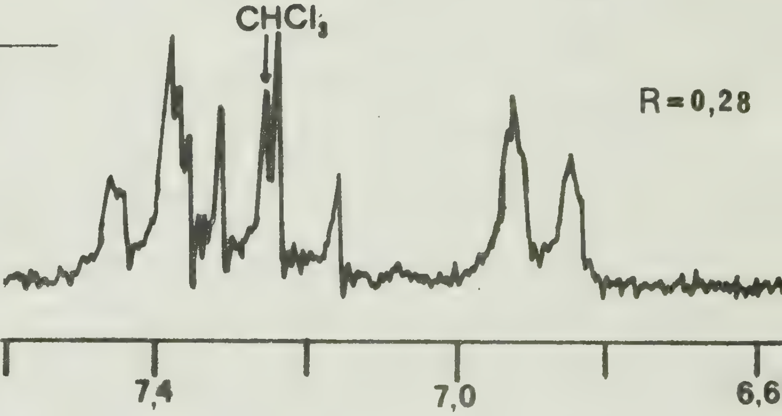
dd 7,7 ppm (J = 7 Hz, J' = 1 Hz): H 9; t 7,44 ppm (J = 7 Hz): H 10; dd 7,12 (J = 7 Hz, J' = 1 Hz): H 11.

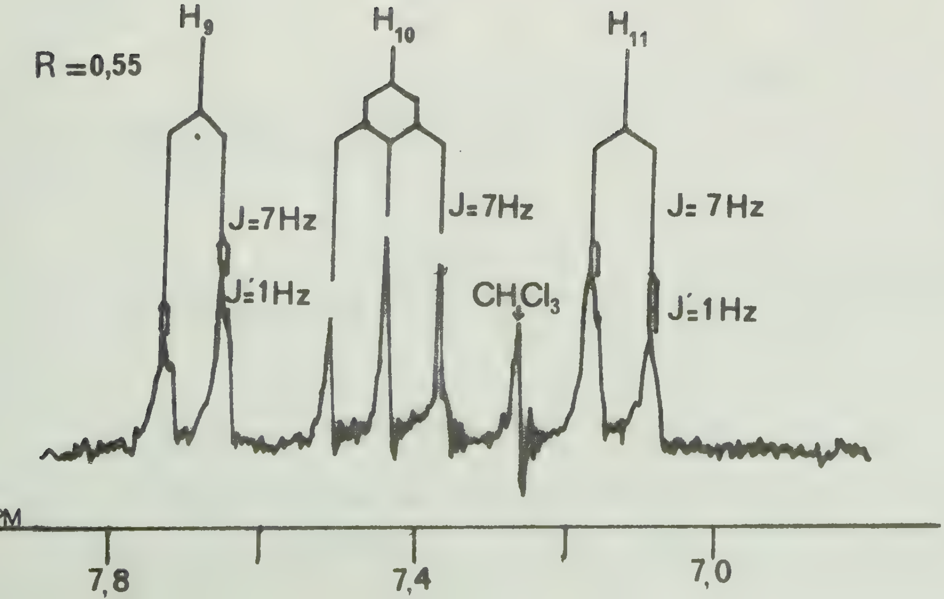
Le groupe méthoxyle ne peut donc être situé qu'en 9 ou 12.





50



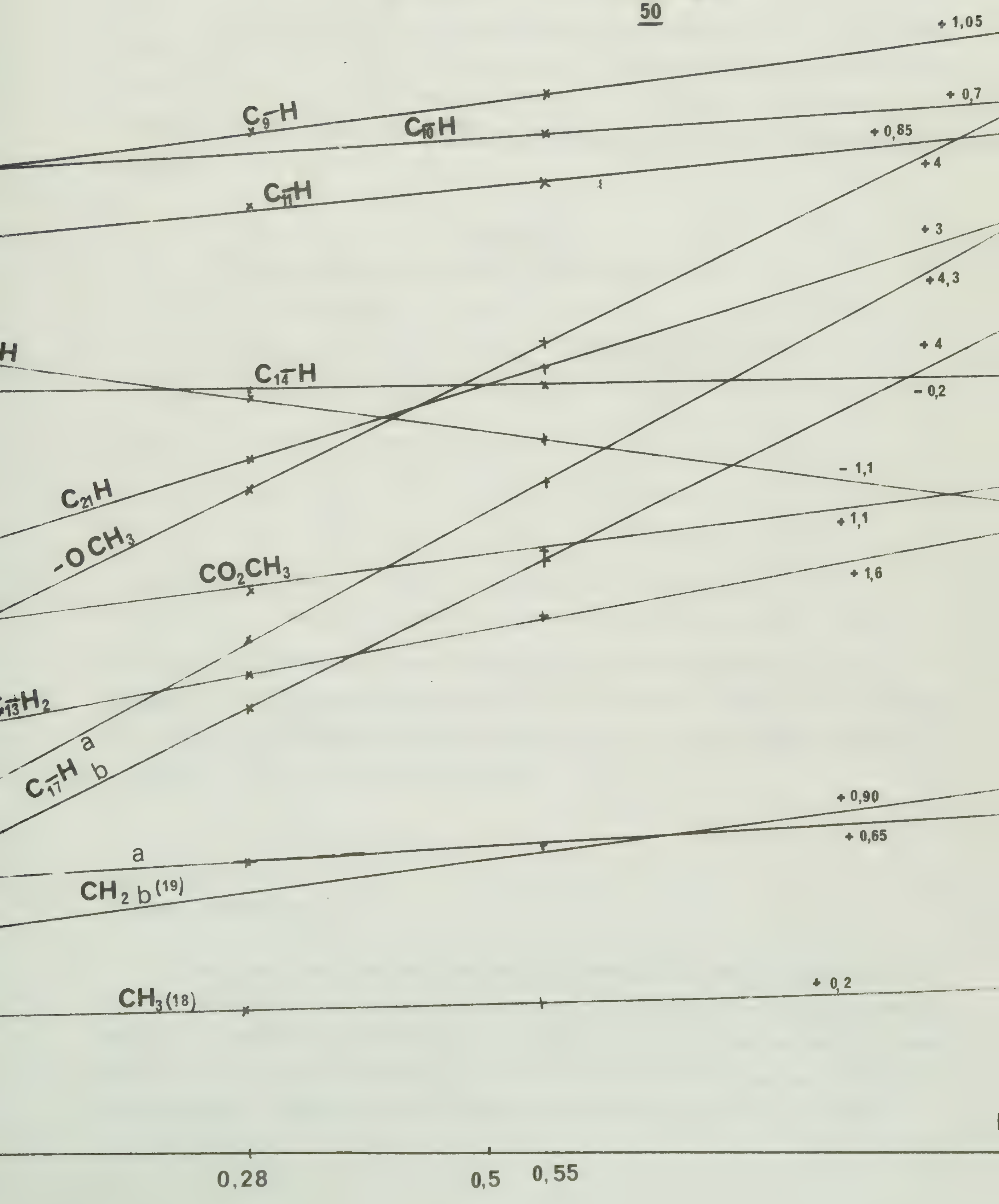


$$R = \frac{Eu(f.o.d.)_3}{\underline{50}}$$

m

méthoxy 12 Δ^{14} vincamine : **50**

$\delta = f[R] \qquad R = \frac{Eu(fod)_3}{\mathbf{50}}$



En comparant les résultats obtenus pour les alcaloïdes 46, 47 54 et 59 on voit (Tableau X) l'homogénéité des déplacements subis par les différents protons aromatiques et notamment le fort déblindage subi - dans tous les cas - par le proton en 12. La présence d'un proton en 12 peut donc être facilement détectée.

Pour l'alcaloïde 50 aucun proton aromatique n'est fortement déblindé, ce qui laisse présager que la position 12 est substituée. D'autre part le déplacement du signal du méthoxyle de 4 ppm vers les champs faibles permet de placer celui ci sans ambiguité en position 12 (94).

Tableau X

Déplacements des signaux après addition d'un équivalent de Eu (f.o.d.)$_3$.

	H_9	H_{10}	H_{11} ou OMe	H_{12} ou OMe
46	+1,4	+0,6	-0,35	+8,4
47	+1,55	+0,8	-0,6	+3,3
54	+0,6	+0,35	-0,3	+4
59	+1	+0,5	-0,3	+2,7
50	+1,05	+0,7	+0,9	+4

N.B. les valeurs des δ induits sont ici -sauf mention spéciale- données après extrapolation pour R = 1. (Pour le détail des droites $\delta = f(R)$ et des $\Delta\delta$ des protons autres que les protons benzéniques se reporter à la partie expérimentale).

CONFIGURATION EN 16.

La position respective de l'hydroxyle et du carbométhoxyle en 16 sont déduites de la comparaison systématique des spectres de RMN de la Δ14- vincamine 46 et de l'épi-16 Δ14- vincamine 47 d'une part, de la Δ14- vincine 54 et de l'épi-16 Δ14- vincine d'autre part. Dans le Tableau XI figurent les valeurs des déplacements

chimiques en ppm pour les différents protons ainsi que les différences entre les δ de la série épi et de la série normale.

L'examen de ce Tableau conduit aux remarques suivantes:

1) - L'épimérisation en 16 n'entraine aucune modification de la position des protons aromatiques H_9, H_{10}, H ou OMe en 11, H_9 étant à champ plus faible que les protons vicinaux du méthoxyle, déplacés par ce dernier vers les champs forts. Le proton en 12 est par contre très sensible à l'épimérisation (déplacement de 0,35 à 0,42 vers les champs faibles pour la série épi par rapport à la série normale).

2) - Le carbométhoxyle subit un déplacement de 0,39 - 0,47 ppm vers les champs forts lorsque l'on passe de la série normale à la série épi. Ceci est dû au fait que dans la série épi, le groupe carbométhoxyle est β-pseudo axial et de ce fait, se trouve placé dans la zone d'influence du noyau aromatique; le même déplacement est observé entre l'épi-16 vincamine, 57 et la vincamine, 56 (71) ainsi qu'entre l'épi-16 vincine, 59, et la vincine, 58, (72). Pour l'alcaloïde 50, la position du signal du carbométhoxyle à 3,83 ppm indique une position pseudo équatoriale.

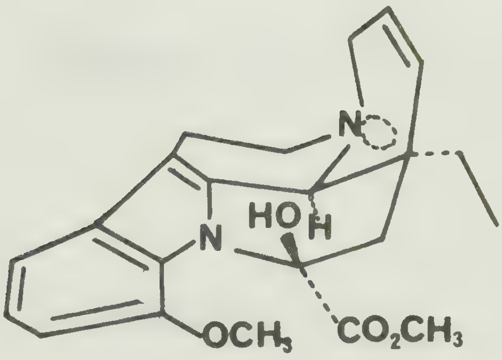
3) - L'épimérisation en 16 entraîne le même déplacement pour le proton en 21 (d = 0,36 - 0,50) ainsi que pour les protons éthyléniques en 14 et 15 (d = 0,14-0,17; 0,56-0,54). Là encore la position des signaux correspondants pour 50 est en faveur de la configuration α pour le carbométhoxyle. On note enfin que le blindage (d = 0,2 et 0,1) des protons de la chaîne éthyle en 20, dû à la proximité de l'hydroxyle dans la série épi n'est pas observé pour 50, l'OH devant être β-pseudo axial

Les protons en 17 équivalents dans la série normale et non équivalents dans la série épi sont non équivalents dans 50; ceci est apparemment en contradiction avec les phénomènes précédemment observés. En fait, l'examen d'un modèle moléculaire montre que le méthoxyle placé en 12 provoque un encombrement qui explique cette non équivalence des H α et β en 17.

alcaloïde / protons	Δ14- vincamine <u>46</u>	Δ14- vincine <u>54</u>	épi-16 Δ14-vincamine <u>47</u>	épi-16 Δ14-vincine <u>55</u>*	ppm** série épi	ppm** - série normale	méthoxy-12 Δ14-vincamine <u>50</u>
H 9	7,45	7,32	7,45	7,30	0	0	7,05
H 10	7,1	6,76	7,1	6,77	0	0	7,05
H 11	7,1		7,1		0		6,6
H 12	7,1	6,58	7,45	7,0	0,35	0,42	
CH_2 19	I,65	1,60	1,45	1,40	0,2	0,2	1,60
	2,0	1,95	1,80	1,85	0,2	0,2	2,0
CH_3 18	1,01	0,99	0,93	0,90	0,08	0,09	0,98
CH_2 3	3,08	3,07	3,02	3,0	0,06	0,07	3,02
H 14	5,6	5,57	5,46	5,40	0,14	0,17	5,48
H 15	5,8	5,74	5,24	5,20	0,56	0,54	5,76
CH_2 17	2,36	2,32	1,99 2,57 sy. AB	I,90 2,50 sy. AB	0,37 0,21	0,42 0,18	2,10 2,46 sy. AB
OMe		3,77		3,8		0	3,75
CO_2Me	3,87	3,85	3,48	3,38	0,39	0,47	3,83
H 21	4,1	4,05	3,74	3,55(?)	0,36	0,50	4,02

* valeurs obtenues sur Varian T 60
** en valeur absolue

La structure de 50 est donc ainsi établie.



50

Ditabersonine. 52

L'alcaloïde 52 n'a pu être obtenu cristallisé même à l'état de sel. Il présente un pouvoir rotatoire de -71°$\pm$ 7 à 578 nm dans le chloroforme.

Son spectre UV (λ max à 226, 300 et 329) est très voisin de ceux d'alcaloïdes possédant un chromophore carbométhoxyméthylèneindolénine. La présence de ce chromophore est confirmée par de fortes bandes d'absorption en IR à 1610 et 1670 cm^{-1}. Le spectre de RMN présente un massif vers 0,8 ppm correspondant à six protons (deux CH_3 de deux chaines éthyle), un singulet à 3,75 ppm (6 protons): deux groupes carbométhoxyle et un massif vers 7,1 ppm de huit protons aromatiques.

L'examen du spectre de masse: M^+ = 670((336x2)-2) permet de postuler une structure ditabersonine pour l'alcaloïde 52.

A ce jour le point d'attache ne peut pas être précisé; l'étude approfondie du spectre de RMN à 100 MHz ne permet pas de conclure. La présence de huit protons aromatiques exclut une liaison par le ou les noyaux benzéniques; les positions 14 15 et 14' 15' sont écartées de la même façon (4 protons oléfiniques). Il ne reste donc que trois positions possibles: C 3, C 5, C 21.

La trop faible quantité disponible n'a pas permis d'obtenir des résultats interprétables en RMN du 13 C.

Chapitre III

Feuilles

Les feuilles de Crioceras dipladeniiflorus contiennent environ 0,75% d'alcaloïdes totaux qui ont été extraits selon le procédé général décrit. Par chromatographie sur colonne d'alumine deux alcaloïdes ont été séparés: la méthoxy-12 voaphylline 61 et la criophylline.

Méthoxy-12 voaphylline. 61

Elle cristallise dans le méthanol

$$F = 149\text{-}151° \quad (\alpha)_{578} = +61° \quad (CHCl_3,\ c = 0{,}54)$$

La formule brute $C_{20}H_{26}O_2N_2$ est confirmée par spectrométrie de masse (pic moléculaire à m/e 326).

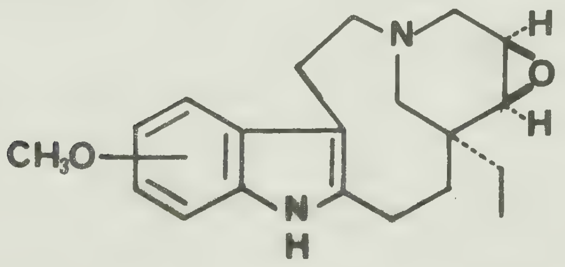
Le spectre UV (Et OH, λnm, log (ε)): 220 (4,52), 276(3,75), et 292 (3,58) traduit l'existence d'un chromophore indolique.

Le spectre IR montre l'absence de bandes OH ou C = O.

Au vu du spectre de RMN on constate que le noyau indole est substitué: m 6,5 à 7,0 ppm: trois protons aromatiques; s 3 protons à 3,95 ppm: groupe méthoxyle. On note également la présence d'un triplet à 0,71 ppm attribuable au CH_3 d'une chaine éthyle fixée sur un carbone trisubstitué et d'un singulet à 8,0 ppm du au N-H indolique.

Le spectre de masse fournit les précisions suivantes:
- confirmation du noyau indole substitué (pics à m/e 173, 174 et 186 (48)
- confirmation de la présence d'une chaine éthyle (M-29)

Les pics à m/e 122 et 140 permettent d'envisager une structure de type quebrachamine dans laquelle un atome d'oxygène supplémentaire est engagé dans une fonction époxyde, c'est-à-dire une structure de type voaphylline (99). BIEMANN ayant montré (102) que l'identité du squelette de deux alcaloïdes différemment substitués peut être déterminée par spectrométrie de masse, il est possible, après comparaison des spectres de masse de 61 et de la voaphylline de proposer pour 61 la structure d'une méthoxy-voaphylline. La stéréochimie de la chaine éthyle est donnée par le signe du pouvoir rotatoire.



61

En examinant avec soin le spectre de RMN dans la région des protons aromatiques on constate que le système formé par ces protons est similaire à celui de la méthoxy-12 Δ14-vincamine 50 ce qui pourrait indiquer une position 12 pour le méthoxyle de 61.

Les résultats obtenus avec les sels d'Europium dans le cas de 50 conduisent à tenter d'appliquer cette méthode à la méthoxy voaphylline. En effet le groupe N-H peut être un site de coordination; il est, de plus, proche du noyau benzénique ce qui devrait permettre de différencier les protons aromatiques.

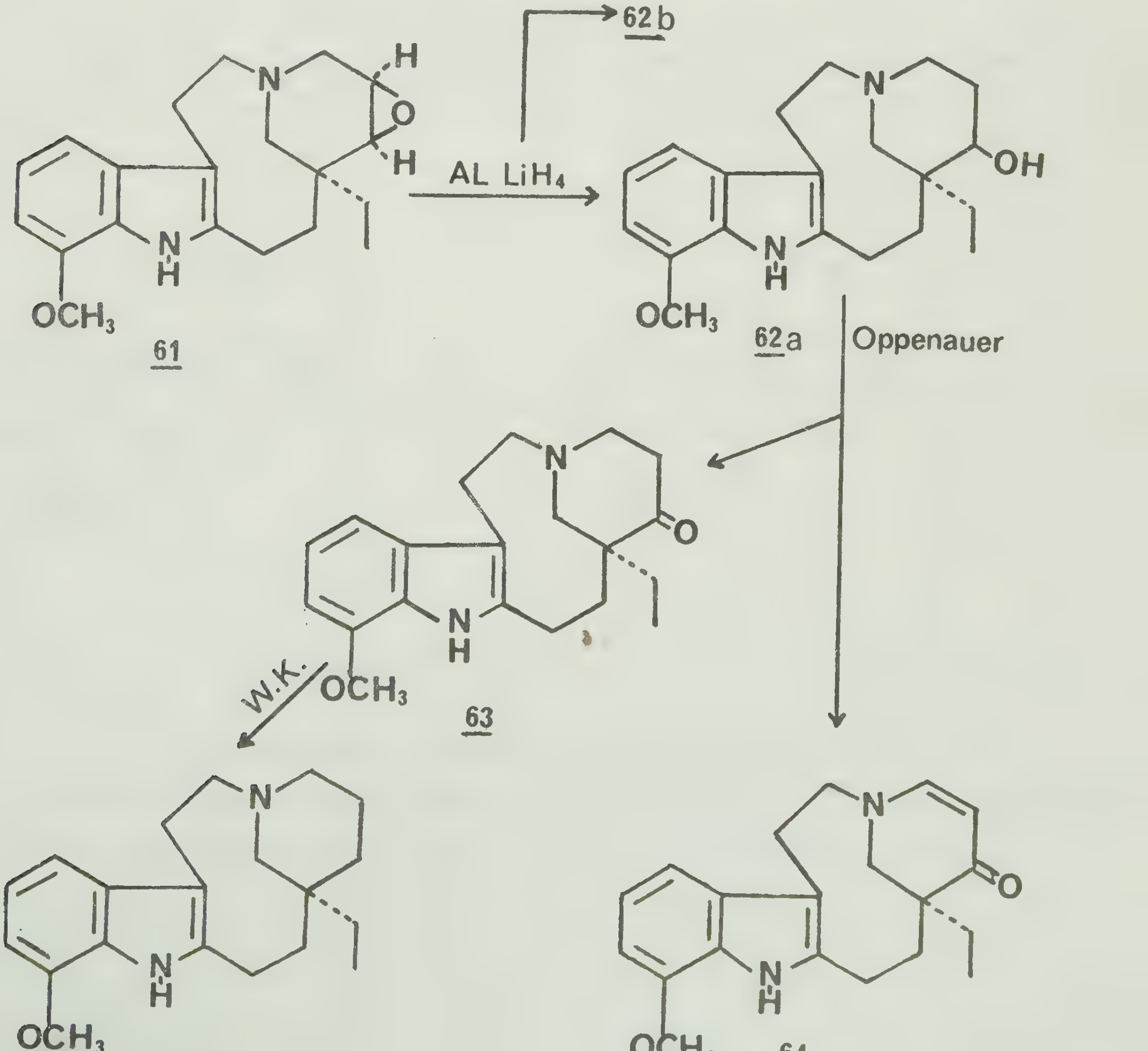
En fait la complexation se fait d'abord sur la fonction époxyde et tous les protons aromatiques (ou le méthoxyle), étant situés à des distances pratiquement identiques par rapport à l'emplacement supposé de l'ion paramagnétique de Eu subissent des déplacements induits sensiblement égaux.

Avec des concentrations relativement importantes de sel d'Europium on peut cependant faire apparaître un système du premier ordre: d, t, d, ce qui implique des positions 10 et 11 libres, la substitution intervenant elle en 9 ou en 12.

Des déterminations analogues ont été effectuées sur la voaphylline 48 afin de comparer les pentes des droites $\delta = f(R)$ obtenues pour le groupe méthoxyle de 61 d'une part et pour les quatre protons aromatiques de la voaphylline d'autre part. Les pentes de ces droites étant très voisines il serait hasardeux de conclure définitivement bien que la position 12 soit la plus probable.

Les données spectrales s'avérant insuffisantes pour attribuer sans ambiguïté la position 12 au groupe méthoxyle, une corrélation chimique était nécessaire.

La méthoxy-12 voaphylline est réduite par $LiAlH_4$ en méthoxy 12-voaphyllinol A:62a (majoritaire) lequel conduit après une réaction d'Oppenauer au mélange des cétones 63 et 64 séparées par chromatographie sur colonne. Une réaction de Wolf Kischner sur la cétone 63 fournit la méthoxy quebrachamine 65.



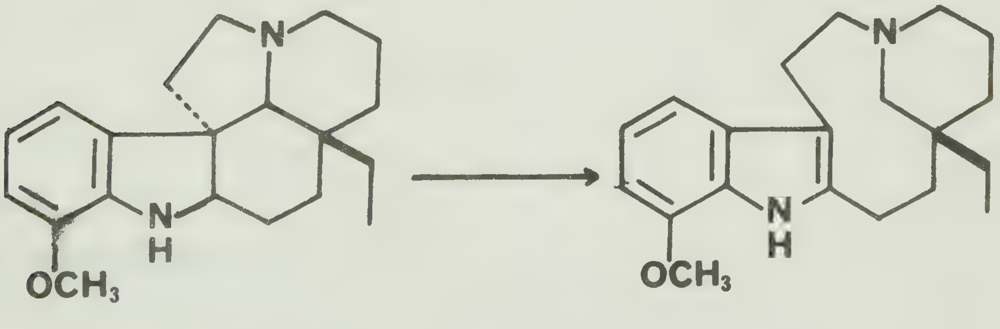
La (-) et la (+) méthoxy-12 quebrachamine étant connues (103,104) une comparaison directe devient donc possible.

La suite des réactions qui a été appliquée à 61 ne modifiant pas la configuration en 20 (105) c'est donc avec la (+) méthoxy-12 quebrachamine (104) qu'il convient de comparer la méthoxy-quebrachamine 65 obtenue.

En fait cette comparaison s'est révélée impossible. En effet H.H.A. LINDE qui isola la (+) méthoxy-12 quebrachamine du *Melodinus australis* (104) nous a fait parvenir une communication non publiée du Pr. PECHER établissant, après examen des spectres de RMN, que le groupe méthoxyle de son alcaloïde est en réalité en position 11.

Cependant la comparaison des spectres de RMN du produit isolé par LINDE et de ceux de la série 61, 62 ... 65, montre des différences importantes dans la région des protons aromatiques.

La (-) méthoxy-12 quebrachamine a été obtenue par BIEMANN (103) à partir de la déhydro desacétyl aspidospermine et de ce fait possède une chaine éthyle-20 β : pouvoir rotatoire = ‒ 103° (raie D, dioxanne).



Les spectres de masse de 65 et de la (-) méthoxy 12 quebrachamine sont superposables; il en est de même des spectres UV ce qui indiquerait la présence du même chromophore.

(+) méthoxy-II quebrachamine	229	273	302
(-) méthoxy-12 quebrachamine	228	278	291
(+) méthoxy-(?) quebrachamine 65	228	276	292

En ce qui concerne le pouvoir rotatoire de 65, s'il est effectivement dextrogyre comme le laissait prévoir la suite des réactions, il est délicat, du fait de la faible quantité de produit obtenu et de son altérabilité, de lui donner une valeur avec précision:

= + 86° $\pm$ 15° (578 nm dioxanne)

Il semble donc que l'on puisse choisir pour le méthoxyle de 61 la position 12. Un argument non négligeable est fourni par des considérations biogénétiques: les relations vincamine, tabersonine, quebrachamine sont connues (cf. chapitre VI). La présence simultanée de méthoxy-12 Δ14-vincamine et de méthoxy-12 voaphylline n'est donc pas surprenante.

Toute ambiguité a pu être levée par l'étude du spectre de RMN du ^{13}C de 61 qui confirme la position 12 du méthoxyle et la stéréochimie 14β,15β de l'époxyde.

Criophylline.

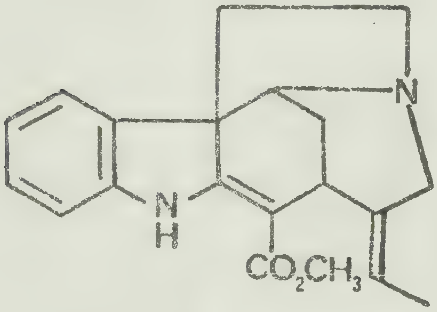
La criophylline cristallise dans l'acétone et le méthanol

F: 278-280° $(\alpha)_{578}$ =-176° ($CHCl_3$, c = 1,04)

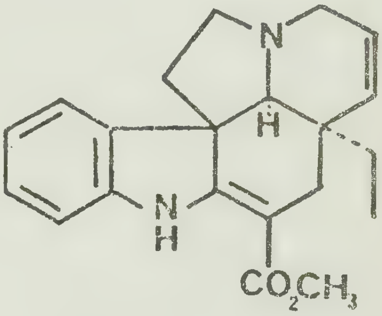
La spectrométrie de masse à haute résolution indique un poids moléculaire de 646, 3528 ce qui conduit à la formule brute $C_{40}H_{46}O_4N_4$ (calculé: 646, 3519).

Le spectre de RMN révèle la présence d'un groupe carbométhoxyle et de deux chaines éthyle: s 3,72 ppm et massif de six protons centré sur 0,9 ppm.

Le spectre UV de la criophylline est voisin de celui d'alcaloïdes possédant un chromophore carbométhoxyméthylèneindoline comme l'akuammicine 66 (106) ou la tabersonine 49 (100):
(EtOH, λ nm, (log ε)) : 214 (4,26), 228 (e) (4,06), 257 (3,93), 299 (4,08), 327 (4,28).



66



49

L'absorption supplémentaire est dûe à la superposition d'un second chromophore qui apparaît nettement en retranchant le spectre de la tabersonine de celui de la criophylline: λmax 258, 310; caractéristique d'un chromophore dihydroindolique. Ce spectre UV est à rapprocher de celui de la voafolidine (105): λmax 213, 225, (e), 260, 300 et 325.

La criophylline est donc un alcaloïde bis indolique.
Parmi les alcaloïdes de ce type on peut distinguer trois groupes:

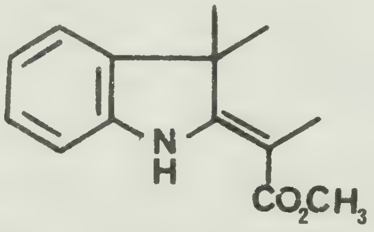
- l'un est caractérisé par une liaison simple carbone-carbone entre une position activée d'une des moitiés et le noyau benzénique de l'autre (voacamine (107), vincaleucoblastine (108);

- le second possède une liaison résultant de la condensation d'un groupe aldéhyde avec deux groupes NH et OH (geissospermine (95).

- un troisième groupe (vobtusine (101)...) est caractérisé par sa résistance à tous les réactifs de coupure, alors que pour les alcaloïdes des deux premiers groupes le clivage des deux "monomères" se fait aisément en milieu acide.

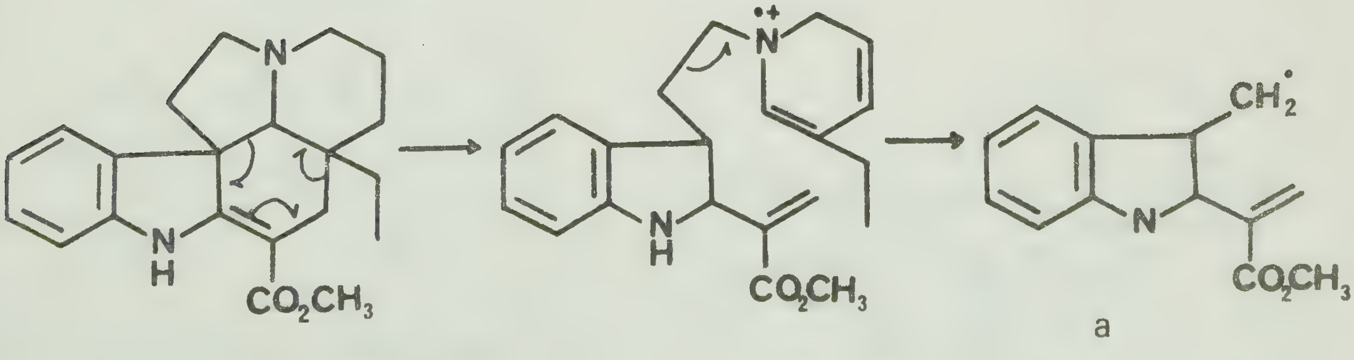
La criophylline, comme la vobtusine, résiste à tous les réactifs usuels de coupure (HCl, HCl/Sn, etc...); traitée par la potasse éthanolique normale elle conduit à la formation d'une descarbométhoxycriophylline M^+588 F: 260°, $(\alpha)_{578}$ = - 63° spectre UV: 212 (4,30), 256 (4,03). Par hydrogénation catalytique de cette dernière une dihydrodescarbométhoxycriophylline, M^+590, est obtenue.

La présence du chromophore 67 est confirmée par les fortes bandes IR à 1680 et 1610 cm^{-1} et les signaux de RMN à 3,70 et 8,9 ppm (N-H lié); il est de plus impossible de modifier le groupe ester sans altérer le chromophore 67.



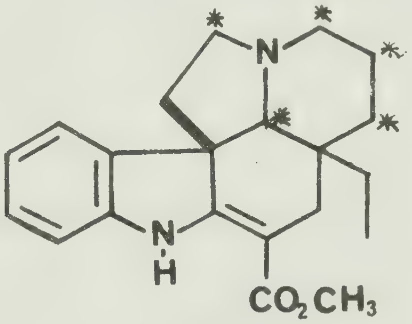
67

Il est donc possible d'envisager pour la criophylline la structure partielle 67, caractéristique des dérivés de l'akuamicine 66 ou de la tabersonine 49. Ceux du type tabersonine 49 sont caractérisés, en spectrométrie de masse, par une fragmentation rétro Diels-Alder au niveau du cyclohexène avec clivage du pont tryptamine et élimination du fragment a:



Si la criophylline possède l'enchaînement de la tabersonine on devra observer la perte du fragment a (à condition que la liaison entre les deux monomères n'interfère pas dans la coupure). L'ion de masse 432, 2650 (calculé 432, 2651: $C_{27}H_{34}O_2N_3$) implique l'élimination d'un fragment neutre $C_{13}H_{12}O_2N$ qui correspond justement à a.

De ce fait la structure partielle 68 peut être proposée pour la criophylline.



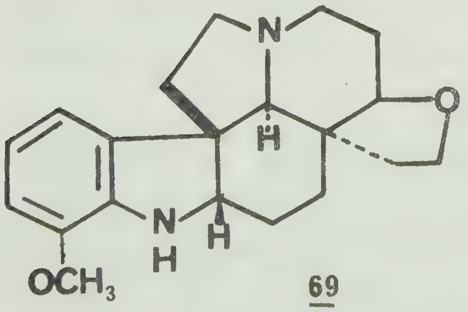
68

Le problème majeur qu'il convient maintenant de résoudre est celui posé par les deux atomes d'oxygène supplémentaires.

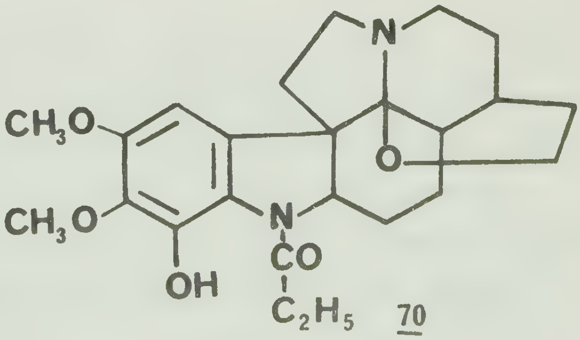
Ils ne sont pas engagés dans un groupe oxo car la bande carbonyle à 1680 cm^{-1} disparaît dans la descarbométhoxycriophylline.

Il n'a pas été possible d'acétyler la criophylline.

Si l'on observe sur le spectre de masse un pic à m/e 138, celui-ci, du fait de la présence de deux chaînes étyle, ne peut pas correspondre à l'ion m/e 138 qui caractérise la présence de ponts éthers du type de ceux de la béninine 69 (109) ou de l'aspidoalbine (110) 70.

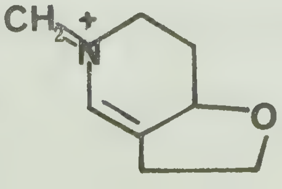


69

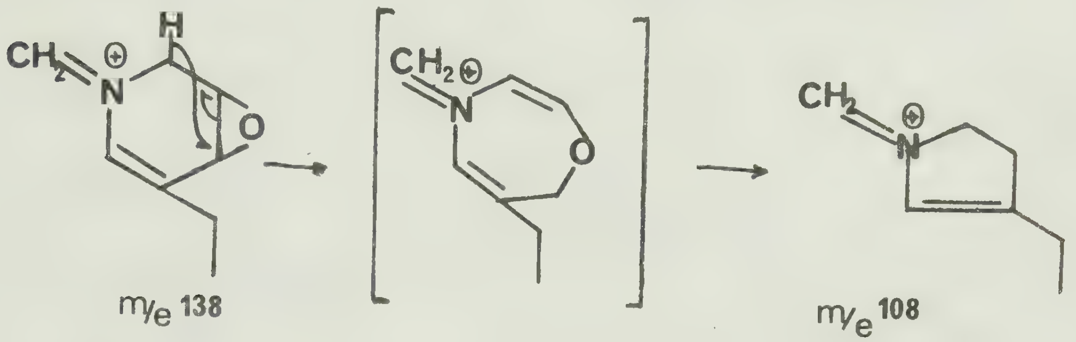


70

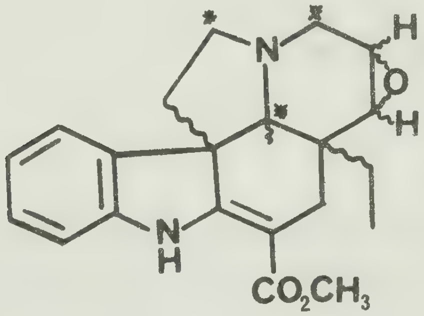
m/e 138



Ce pic à m/e 138 est par contre à rapprocher de celui que l'on observe sur le spectre de masse d'un alcaloïde à fonction époxyde comme la lochnéricine (111); cet ion conduit à un ion m/e 108 également présent sur le spectre de masse de la criophylline.



La structure partielle devient donc:

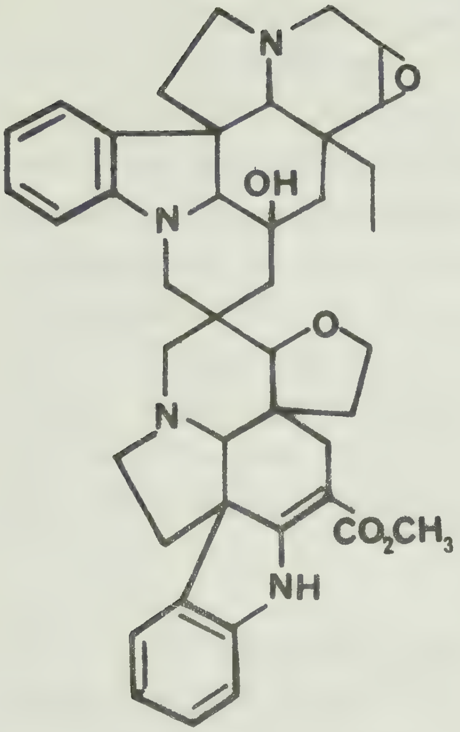


Place du quatrième atome d'oxygène, hypothèse de structure.

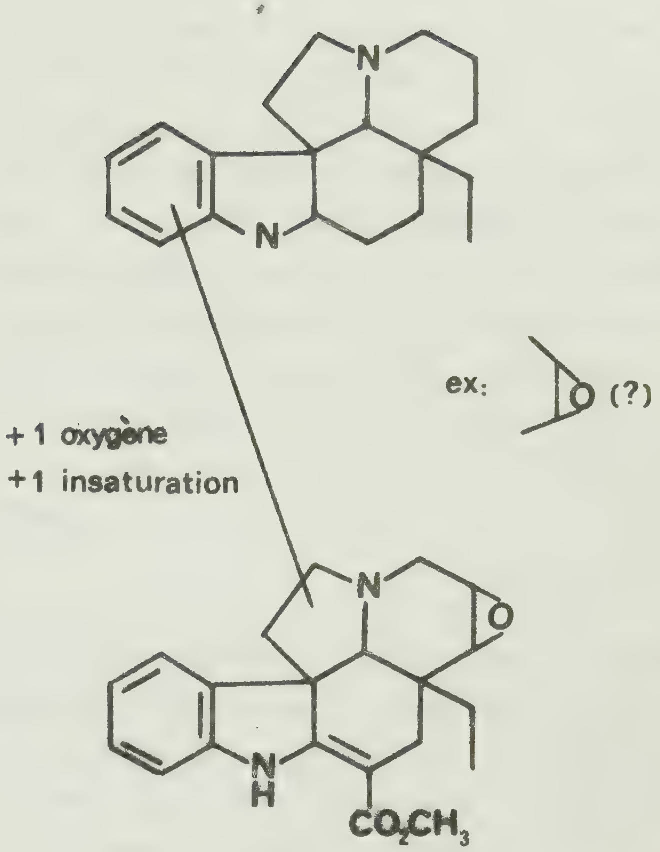
-1) si l'oxygène est engagé dans une fonction alcool tertiaire (type vobtusine) il faut envisager une structure proche de celle de la voafolidine 71 mais qui en différerait -notamment- par l'absence de deux chainons méthylène.

-2) aucun argument ne permet d'exclure la présence d'une deuxième fonction époxyde dans la criophylline. S'il en est ainsi il n'y aurait qu'une seule liaison de jonction: type "A".

Nature de la liaison: trois positions sont possibles en ce qui concerne la partie indolique. Pour la partie dihydroindolique il est difficile de proposer un point d'attache; cependant l'examen du spectre de RMN montre, bien que l'intégration soit difficile à réaliser, que le multiplet des protons benzéniques peut être dû à 6 ou 7 protons. Après enregistrement du spectre dans des solvants différents le chiffre de



71



"A"

7 protons peut être retenu. Les protons aromatiques de la partie "lochnericine" étant exclus (SM) cela signifie que la liaison (ou l'une des liaisons) engage un carbone aromatique de la partie dihydroindolique. Le spectre UV de la criophylline est d'ailleurs en faveur de cette hypothèse: les valeurs obtenues après soustraction du spectre de la tabersonine sont superposables à celles observées pour un dihydroindole substitué.

* * *

STRUCTURE DE LA CRIOPHYLLINE: RMN du ^{13}C.

Les méthodes classiques ne permettant pas de préciser davantage la structure de la criophylline,il était nécessaire de faire appel soit aux spectres de diffraction de rayons X soit à la spectrométrie de résonance magnétique nucléaire du ^{13}carbone.

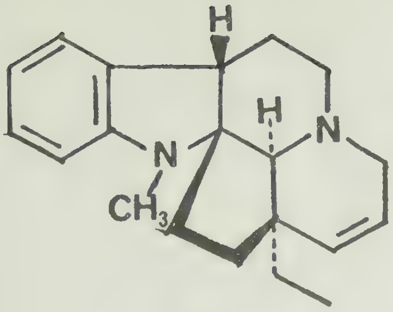
Devant l'impossibilité d'obtenir un cristal de dimensions suffisantes c'ést la RMN du ^{13}C qui a été mise en oeuvre.

Cette méthode permet en effet de mettre en évidence tous les atomes de carbone d'une molécule sous la forme de signaux étroits (découplage total). De plus par un découplage partiel on aura pour chaque atome de carbone un multiplet (une raie de plus que le degré d'hydrogénation du carbone considéré); par le biais de ces multiplets il est possible de vérifier les attributions posées sur la base des déplacements chimiques (121). De plus pour les molécules complexes on aura recours à la comparaison des δ des carbones de composés appartenant à une même série. Dans le cas de la criophylline on dispose d'alcaloides monomères proches des deux moitiés supposées et des travaux de WENKERT (112) sur les alcaloides du type Aspidosperma.

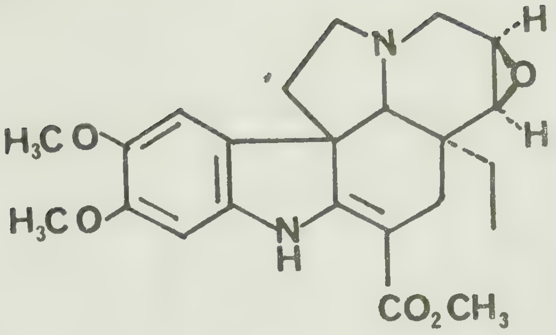
Le spectre de RMN de ^{13}C de la criophylline 75 obtenu par découplage partiel confirme la présence de 40 carbones: 12 non protonés, 15 de type C-H, 10 de type $C-H_2$ et 3 CH_3. Si l'on tient compte du fait que les deux atomes d'azote indolique sont liés chacun à un atome d'hydrogène ce résultat est en accord avec la présence de 46 hydrogènes dans la criophylline.

Si le signal à 168,8 ppm représente sans aucun doute le carbone du carbonyle de la partie "lochnericine" du dimère, la localisation des autres atomes de carbone liés aux deux oxygènes supplémentaires s'est révélée difficile. En effet dans la région qui caractérise ces carbones deux signaux seulement sont observés: l'un à 70,2 ppm (C-H), l'autre à 75,9 ppm (C quaternaire) celui a 70,2 étant caractéristique du C 21 des alcaloides de type aspidosperma (112). Ceci conduit à postuler la présence de deux fonctions époxyde dont on sait que les carbones porteurs absorbent généralement entre 50 et 60 ppm (113). La présence de huit carbones de type C-H dans la région des carbones saturés est également inexplicable en l'absence d'époxyde puisque la tabersonine elle même ne compte qu'un seul carbone sp^3 monohydrogéné.

Disposant de deux alcaloides monomères: l'andrangine 72 et l'hazuntinine 74 porteurs chacun d'un époxyde il a été procédé à la comparaison des spectres de la criophylline et des deux monomères.



73



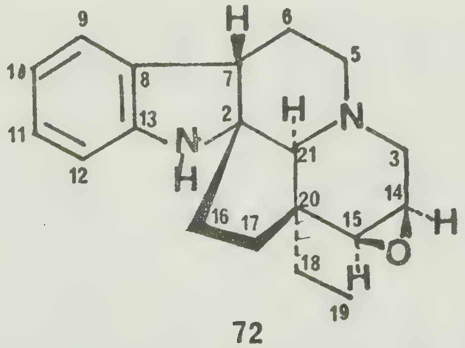
74

Analyse du spectre de RMN de ^{13}C de l'andrangine 72.

La structure de cet alcaloïde a été récemment déterminée (114) par corrélation avec le composé 73, dérivé de la (+) vincamsonine obtenue par LE MEN et coll. (115) par réarrangement d'un dérivé de la tabersonine.

Le spectre de RMN de ^{13}C est en parfait accord avec la structure proposée; l'attribution des carbones (TableauXIII) a été éffectuée en fonction de la théorie du déplacement chimique appuyée par des expériences de découplage partiel. (122)

- La différenciation des signaux à 51,9 et 58,3 ppm des carbones porteurs de l'époxyde est aisée: le carbone néopentylique en C-15 doit absorber à champ plus faible.
- Le signal à 70,1 ppm est attribué au C-21 en accord avec les travaux de WENKERT (112) et avec la configuration en β de l'époxyde.



72

- Le dernier signal à 44,2 ppm représente nécessairement le C 7.
- Pour les carbones quaternaires, le C-2 en α d'un azote résonne à champ nettement plus faible que le C-20.
- Pour les carbones de type CH_2 la distinction est plus difficile étant donné la faible différence de δ qui les sépare. Si les signaux à 50,4 et 51,5 ppm peuvent être attribués indifféremment au C-3 et au C-5 ceux observés à 34,2, 34,9 et 35,2 ppm représentent sans distinction possible C-16, C-17 et C-19. Les signaux à 24,2 et 9,6 ppm correspondent

et de l'époxy-14β,15β tabersonine[c].

	C-2	C-3	C-5	C-6	C-7	C-8	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13
criophylline[d]	165,0	(42,4) (58,1)	(58,1) (48,4)	(48,4) (42,4)	54,2	138,0	121,5	120,2	127,6	109,1	143,1
époxy-14β,15β tabersonine[c]	166,0	49,2	51,4	43,4	54,8	138,0	121,0	120,5	127,4	109,3	143,4
	C-14	C-15	C-16	C-17	C-18	C-19	C-20	C-21	C=O	OMe	
criophylline[d]	(54,2) (56,8)	(56,5) (54,2)	90,8	23,9	7,3	27,0	36,6	62,0	168,8	50,9	
époxy-14β,15β tabersonine[c]	51,8	57,0	90,7	23,3	7,0	26,3	36,8	70,8	168,8	50,7	
	C-2'	C-3'	C-5'	C-6'	C-7'	C-8'	C-9'	C-10'	C-11'	C-12'	C-13'
criophylline	75,9	50,6	52,1	24,2	44,1	132,0	123,9	125,2	127,6	108,6	149,1
andrangine	75,3	50,4[b]	51,5[b]	24,2	44,2	131,8	122,7	118,9	127,4	109,3	149,5
	C-14'	C-15'	C-16'	C-17'	C-18'	C-19'	C-20'	C-21'			
criophylline	51,5	58,3	34,3	35,0	9,7	35,0	43,9	70,2			
andrangine	51,9	58,3	34,2[a]	34,9[a]	9,6	35,2[a]	43,8	70,1			

Les spectres de 72 et de 75 ont été mesurés en solution dans le $CDCl_3$ à 22,63 MHz, sur un spectrométre Bruker HX 90 E muni d'une transformée de Fourier. Les déplacements chimiques sont donnés par rapport au TMS=0 utilisé comme référence interne

(a) (b) une attribution inverse est également possible

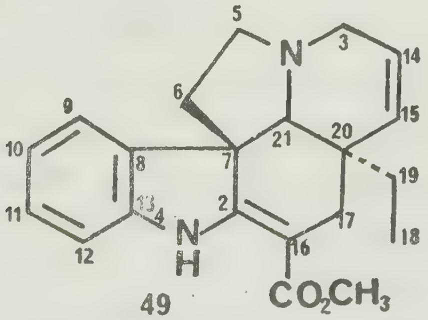
(c) les déplacements chimiques donnés pour ce composé représentent en fait ceux observés pour l'hazuntinine 74 pour les 6 carbones aromatiques les δ de la tabersonine 49 ont été reproduits (d) 1ère( ): 75a 2ème ( ) 75b.

respectivement à C-6 et C-18.

- En ce qui concerne les carbones aromatiques l'attribution s'effectue en fonction des travaux de PARKER et ROBERTS (116) sur les spectres de RMN de ^{13}C des indoles et méthylindoles.

La comparaison des spectres de ^{13}C de l'andrangine et de la criophylline ne laisse aucune ambiguité quand à la structure du dimère. En effet on retrouve dans le spectre de la criophylline des signaux correspondants à tous les carbones saturés de l'andrangine, les différences de δ sont de l'ordre de 0,2 ppm (donc aux erreurs expérimentales près ils sont superposables) et les degrés d'hydrogénation sont identiques. Il n'en est pas de même en ce qui concerne les carbones aromatiques de l'andrangine.

La partie champ faible du spectre de la criophylline est en accord avec la présence supposée d'une moitié époxy-14,15 tabersonine puisqu'elle montre des signaux de δ et de degré d'hydrogénation identiques à ceux des carbones C-2, C-8, C-9, C-10, C-11, C-12, C-13, C-16 et C carbonylique observés sur le spectre de la tabersonine elle même.



49

Stéréochimie de la deuxième fonction époxyde.

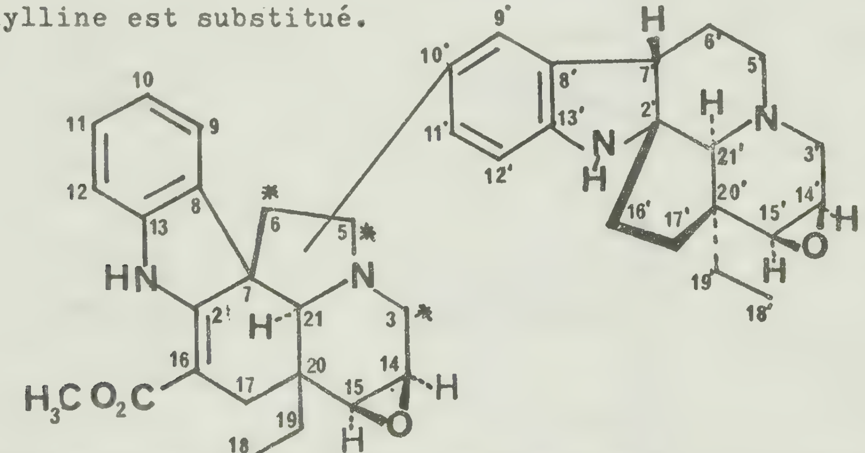
La superposition des spectres de ^{13}C de la criophylline 75 et de l'hazuntinine 74 fournit d'autres renseignements

- la faible différence de δ du C-17 (23,3 ppm) et du C-19 (26,3 ppm) de l'hazuntinine et des signaux à 23,9 et 27,0 ppm dans le spectre de la criophylline fait que ceux ci ne peuvent être attribués qu'à ces deux mêmes carbones. WENKERT et coll. (112) ont montré que de tels déplacements chimiques sont caractéristiques des C-17 et C-19 d'une époxy-14β, 15βtabersonine. Une telle configuration peut donc être attribuée à la criophylline.

Sites et stéréochimie de la jonction des deux monomères.

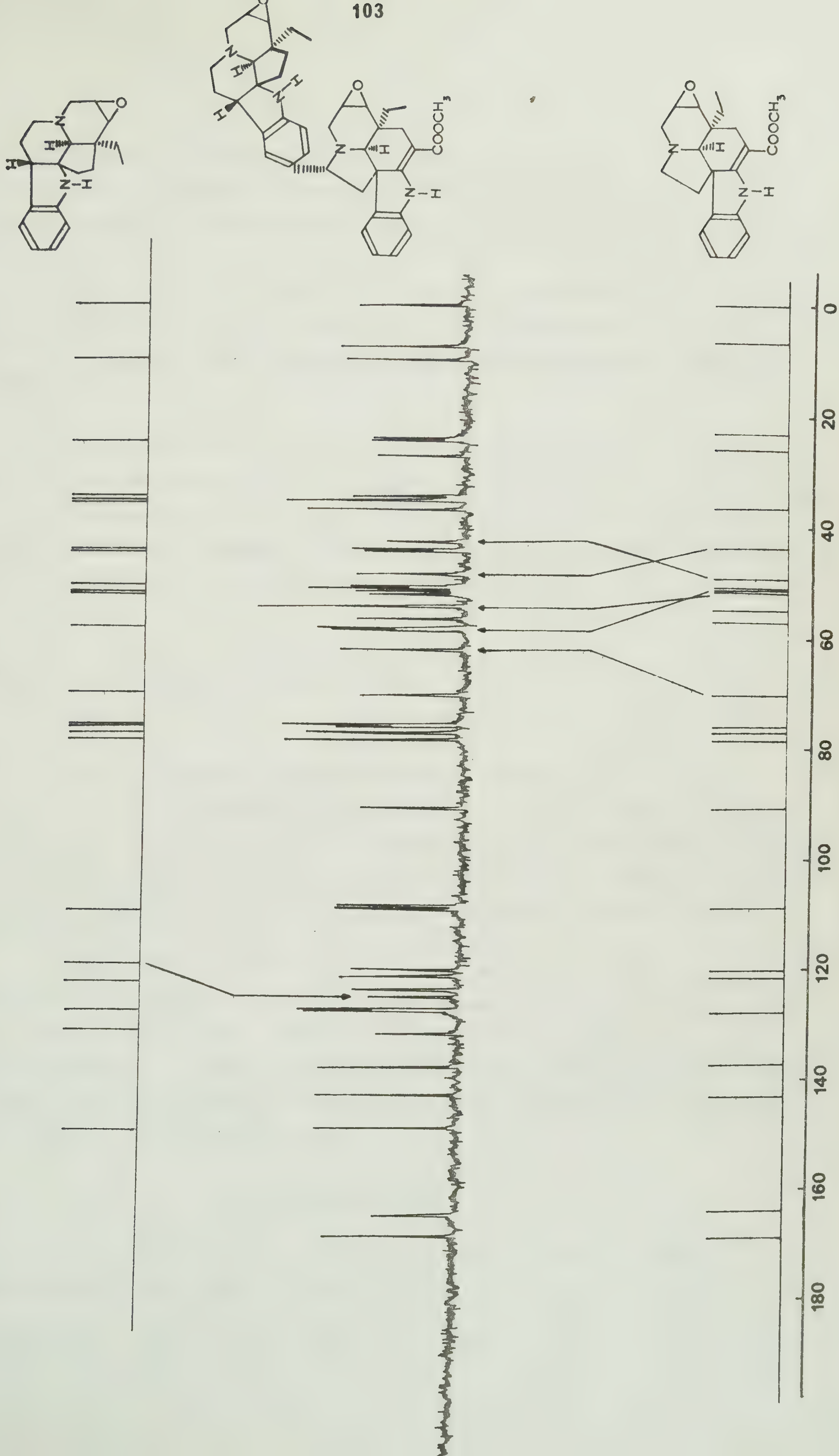
D'après les arguments précédents la criophylline 75 doit donc être constituée d'une unité andrangine 72 et d'une unité époxy-14β,15β tabersonine (lochnéricine) il reste à déterminer les deux sites et la stéréochimie de la jonction.

La comparaison de la partie du spectre de ^{13}C de l'andrangine correspondant à ses carbones aromatiques avec les 6 signaux de la criophylline qui représentent les six carbones de type sp^2 non encore attribués indique que le carbone C-10' de la partie andrangine de la criophylline est substitué.



En effet le signal du C-10 de l'andrangine à 118,9 ppm ne s'observe pas dans le spectre de la criophylline . Le spectre de découplage partiel de cette dernière indique la présence parmi les six signaux non attribués de trois carbones non protonés à 149,1, 132,0 et 125,2ppm . Pour l'andrangine monomère on observe les deux carbones aromatiques non protonés C 8 et C 13 à 131,8 et 149;5ppm. Le signal à 125,2 ppm doit donc être attribué au carbone aromatique substitué de la partie andrangine de la criophylline. La substitution en C-10' s'accompagne d'un déplacement de 6,3 ppm vers les champs faibles ce qui est en accord avec l'incrément de 6,5 ppm établi par PARKER et ROBERTS (116) pout l'introduction d'un méthyl en 5 sur l'indole.

Le signal du C-21 de l'époxy-14β,15β tabersonine à 70,8 ppm est absent dans le spectre de la criophylline; ce signal a du se déplacer vers les champs forts par suite de la jonction des deux monomères puisque le seul signal attribuable à ce carbone dans le dimère apparaît à 62,0 ppm.


COOCH3
COOCH3
0
20
40
60
80
100
120
140
160
180

Ce déplacement de l'ordre de 8 ppm étant caractéristique d'une nouvelle interaction 1-3 diaxiale affectant l'hydrogène -21α axial, le deuxième site de la jonction des deux monomères peut être en C-6, C-5 ou C-3.

Quelque soit le carbone impliqué, ces considérations nécessitent que la substitution de la lochnericine par l'andrangine se fasse sur la face α, ceci détermine la stéréochimie de la jonction des deux monomères.

Le carbone C-6 doit être écarté car dans ce cas le C-5 subirait un effet β et un signal de type CH_2 devrait apparaitre entre 56 et 60 ppm.

Le choix entre C-3 et C-5 est plus difficile. En effet les δ observés pour les carbones non encore attribués de la partie époxy-14β,15β tabersonine peuvent être interprétés de deux façons.

Hypothèse A: C-5, 75 a, (Tableau XIVa).

Dans ce cas une interaction de type "péri" entre la liaison C-5—— C-10' et l'hydrogène H-3α repousserait vers les champs forts le carbone C-3. Cette interaction se traduirait par un déplacement de 6,8 ppm et le signal attribuable au C-3 serait à 42,4 ppm. Les effets subis par C-5 et C-6 seraient de 6,7 et 5,0 ppm, ces carbones seraient alors représentés par les signaux à 58,1 et 48,4 ppm.

Le carbone C-15 (56,5 ppm) ne subirait pratiquement pas de changement par rapport à son déplacement chimique dans l'hazuntinine 74 (112) tandis que le C-14 serait représenté par le signal à 54,2 ppm. Ce déblindage de 2,4 ppm s'explique difficilement sans faire intervenir l'hypothèse d'une déformation du cycle E de la lochnericine en passant du monomère à la criophylline 75.

Tableau XIVa 75a

	C-3	C-5	C-6	C-14	C-15	C-21
criophylline	42,4	58,1	48,4	54,2	56,5	62,0
lochnericine	49,2	5I,4	43,4	51,8	57,0	70,8

Hypothèse B: C-3, 75 b, (Tableau XIVb).

Le raisonnement appliqué pour la structure 75a reste qualitativement valable ; toutefois les déplacements provoqués par la substitution se traduisent du point de vue quantitatif d'une façon différente.

Une interaction de type "péri" entre la liaison C-3—— C-10' et l'hydrogène H5α repousserait vers les champs forts le carbone C-5, ce qui se traduirait par un déplacement de 3,0 ppm: 48,4 ppm. Les effets subis par C-3 et C-14 seraient de 8,9 et 4,7 ppm (signaux à 58,1 et 56,5 ppm) Le carbone C-6 (42,4 ppm) ne subirait qu'unfaible changement par rapport à son déplacement chimique dans l'hazuntinine 74 tandis que le C-15 serait représenté par le signal à 54,2 ppm; il serait donc blindé de 2,8 ppm en raison de l'interaction de type 1,3- diaxiale entre la liaison C-3——C-10' et l'hydrogène H5α.

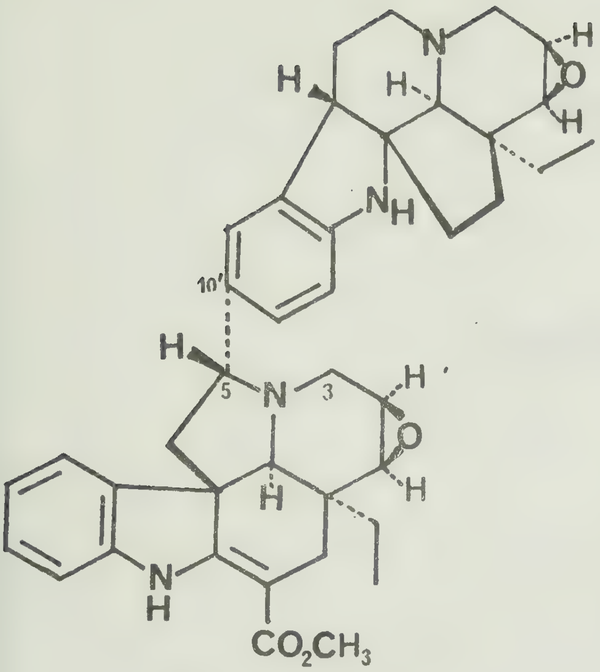
Tableau XIVb 75b

	C-3	C-5	C-6	C-14	C-15	C-21
criophylline	58,1	48,4	42,4	56,5	54,2	62,0
lochnéricine	49,2	51,4	43,4	51,8	57,0	70,8

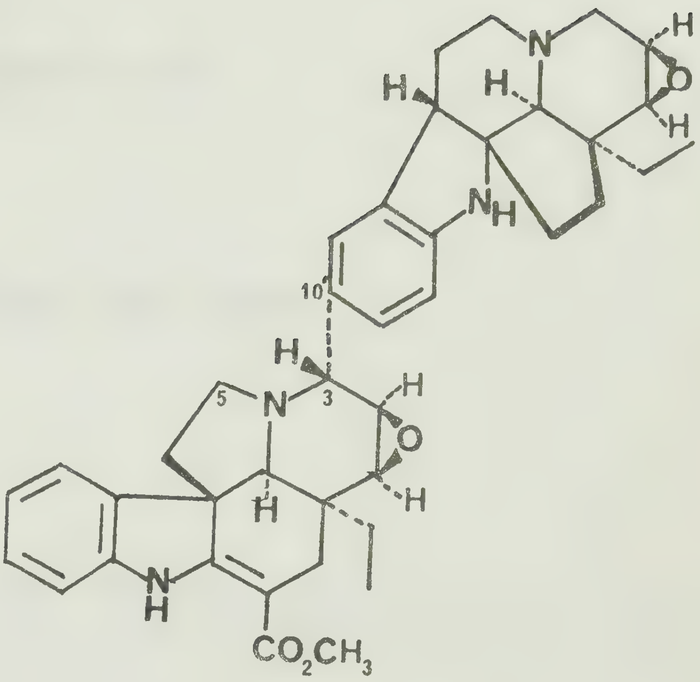
En l'absence d'études systématiques en RMN du ^{13}C concernant le comportement d'époxycyclohexanes ou d'époxypipéridines et à la lumière de ce qui est connu à ce jour ce déplacement de 2,8 ppm vers les champs forts que subirait le C-15 par suite de la substitution en C3α semble trop faible.

L'hypothèse 75a ne peut pas être retenue non plus avec certitude en raison d'une part du déplacement non expliqué de 2,4 ppm que subirait le carbone C-14 dans ce cas, d'autre part l'interaction péri se traduirait par un blindage du C-3 (6,8 ppm) qui paraît un peu fort.

En conclusion l'une des deux formules 75a et 75b peut être proposée pour la structure de la criophylline.



75a



75b

* * * * *
* * * *
* * *
* *
*

Andrangine 72 (+)époxy-14,15 nor-1 vincamsonine

Dans les eaux mères de cristallisation de la méthoxy-12 voaphylline une faible quantité d'un alcaloïde de masse 590 a pu être isolée. Ayant admis une structure de type A—B pour la criophylline (ou A = époxy tabersonine) et supposant que ce produit pouvait avoir une structure de type B—B symétrique, une nouvelle extraction a été mise en oeuvre sur un lot de feuilles provenant de cultures réalisées au phytotron du C.N.R.S.

L'alcaloïde isolé cristallise dans l'hexane

F 132° $(\alpha)_D$ -42° ($CHCl_3$, c=1).

Son poids moléculaire est de 296, il a été identifié à l'andrangine 72 (114).

Le premier résultat (M^+=590) a pu être expliqué: si la température d'enregistrement du spectre de masse est trop élevée il y a dimérisation dans l'appareil (une telle dimérisation a pu être obtenue avec un échantillon authentique d' andrangine).

☆ ☆ ☆

Chapitre IV

Ecorces de tiges

Les écorces de tiges du Crioceras dipladeniiflorus contiennent, selon les lots, de 0,24 à 0,60% d'alcaloïdes totaux (m=0,43%).

L'étude a porté essentiellement sur un lot récolté en avril 1971 dont la teneur est de 0,60%.

Les alcaloïdes totaux obtenus par la méthode générale précédemment décrite sont chromatographiés sur colonne d'alumine; on isole successivement:

- Tabersonine 49 2-3%
  Alcaloïde F 1-2%
  Voaphylline 48 3-4%

  Apo Δ14-vincamine 51 traces
  Méthoxy-12 Δ14-vincamine 50
  Δ 14-vincamine 46 20%
  Epi-16 Δ14-vincamine 47 20-25%
  Produits polaires 20%

Alcaloïde "F" isolé en très faible quantité, il semble qu'il s'agisse d'un alcaloïde nouveau:

F 161-162° $(\alpha)_{578} = -27°$ ($CHCl_3$, c = 0,85)

son poids moléculaire est de 350 pour une formule brute $C_{21}H_{22}O_3N_2$. Le spectre de masse laisse apparaître peu de fragmentations,

le pic de base à m/e 170 peut être dû à la présence d'un squelette tetrahydro-β carboline. Des pics à m/e 335, 321, 291 (M-15, M-29, M-59) indiquent l'existence d'une chaine éthyle et d'un groupe carbométhoxyle.

Le spectre UV: 227 (4,51), 269 (3,96), 281 (3,86), et 291 (3,59) atteste de la nature indolique de cet alcaloïde.

Le spectre IR confirme le groupe carbométhoxyle (ν c = O 1770 cm^{-1}).

La chaine éthyle et le groupe carbométhoxyle sont également confirmés par le spectre de RMN: <u>t</u> 1,13 ppm (J = 7 Hz), <u>s</u> 4,06 ppm; on note en outre l'existence de quatre protons aromatiques m 7,0 à 7,5 ppm. D'autres signaux apparaissent sur le spectre: système A B 2,41 et 2,80 ppm (J = 12,5) et un système complexe étalé de 4,6 à 5,9 ppm dû à deux protons.

Cet alcaloïde n'est pas acétylable, il peut être hydrogéné catalytiquement (M^+ = 352).

La très faible quantité isolée n'a pas permis de poursuivre plus avant la détermination de la structure.

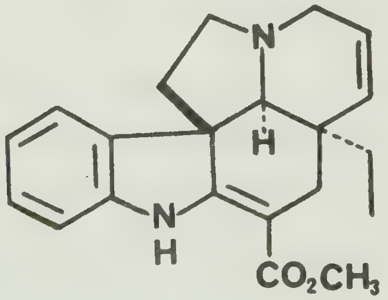
☆ ☆

Chapitre V

Graines

Après dégraissage préalable par l'éther de pétrole les graines sont extraites par l'éther en milieu alcalin. On obtient 0,34% d'alcaloïdes totaux.

En CCM on constate que les alcaloïdes totaux sont en fait constitués par un seul alcaloïde qui a été identifié à la tabersonine 49.



49

Transformé en chlorhydrate

F = 196° $(\alpha)_D$ = - 310°

les spectres sont superposables à ceux d'un échantillon de référence.

☆ ☆

Chapitre VI

Variations saisonnières races chimiques.

Le Crioceras dipladeniiflorus pouvant présenter un certain intérêt pharmacologique, il était intéressant de procéder à une étude tant qualitative que quantitative des alcaloïdes présents dans les échantillons représentatifs des différents peuplements mis en évidence.

Dans ce but des dosages ont été effectués sur tous les lots. Les résultats de ces dosages (réalisés selon le protocole décrit au début du chapitre 2) sont rassemblés dans le tableau XII; ce tableau fait également état de résultats concernant certains des alcaloïdes.(0) absent, (±) traces, (+), (++), (+++), abondances normale, forte, exceptionnelle.

Au vu de ce tableau un certain nombre de remarques peuvent être énoncées au sujet des variations en fonction de:

- la partie de la plante,
- l'époque de la récolte,
- le lieu de la récolte,

I) Variations selon la partie de la plante:

- La teneur en alcaloïdes totaux des écorces de racines est largement supérieure à celle des écorces de tiges.
- Les écorces de racines sont toujours proportionnellement plus riches en Δ14-vincamine et épi-16 Δ14-vincamine que les écorces de tiges.
- Aucun des lots d'écorces de tiges ne renferme de quantités décelables de vobtusine alors que l'alcaloïde F est constant; à l'inverse la vobtusine est constante dans les écorces de racines.
- Ecorces de racines et de tiges sont totalement dépourvues des alcaloïdes des feuilles.
- Les graines elles, ne contiennent qu'un seul alcaloïde, la tabersonine.

2) Variations en fonction de l'époque de la récolte:

Date de la récolte	Lieu de la récolte	Organe étudié	Rendement	53	50	51
16-04-69	Dimonika	R	1,6%	+		
"	"	T	0,24	0	0	0
"	"	F	0,75	0	0	0
27-10-70	Col des Mbambas	R	0,52	+	+	+
"	"	T	0,52	0	±	±
"	Mvouti riv. Bandzaou	R	1,2	+	+++	±
"	"	T	0,35	0	±	+
"	Mpounga v. Girard Km 5	R	0,69	+	+	0
"	Mpounga v. Girard Km 13	R	0,66	+	+	0
"	Dimonika Paris Sangha	R	0,57	+	++	++
"	Les Sarahs Km 10	R	0,79	+	++	+
"	Tchisafou Kibangou km 30	R	0,61	+	+	+
"	env.de Mvouti	R	0,93	+	++	+
"	"	T	0,60	0	±	±
22-04-71	Mvouti riv. Bandzaou	R	1,1	++	+++	0
"	"	T	0,28	0	±	0
"	Dimonika Paris Sangha	R	1,3	+	++	++
"	"	T	0,62	0	+	0
"	Mpounga v. Girard km 5	R	1,4	+	+	0
"	"	T	0,60	0	±	0
07-71	Mpounga v. Girard km 13	R	0,85	+	+	±
"	Les Sarahs	R	0,8	+	+	±
03-09-72	Manfini Meya	R	0,57	+	±	+
"	"	T	0,30	0	±	+
"	Mpassa	R	0,17	0	0	±
"		G	0,34	0	0	0

- La teneur en alcaloïdes totaux est plus élevée en avril ($\bar{m}$ = 1,35%) qu'en juillet ($\bar{m}$ = 0,82%) ou en octobre ($\bar{m}$ = 0,7%).

- Il semble que les teneurs en Δ14-vincamine et épi-16 Δ14-vincamine d'une part, et en tabersonine d'autre part soient liées et évoluent en sens inverse au cours du cycle végétatif.

3) Variations en fonction du lieu de la récolte:

- D'importantes variations sont observées sur le plan qualitatif. La présence ou l'absence d'un ou plusieurs alcaloïdes est fonction de l'origine géographique et totalement indépendante de l'époque de la récolte.

Ainsi l'un des lots (Mvouti) est particulièrement riche en méthoxy-12 Δ14-vincamine, aussi bien en juillet qu'en octobre, alors que d'autres lots en contiennent peu ou en sont totalement dépourvus.

La teneur en alcaloïdes totaux dépend à la fois du lieu et de l'époque. Il convient cependant de remarquer que cette influence du lieu (pour une époque déterminée) n'est pas - vu le peu d'échantillons étudiés - véritablement significative (peu de dispersion autour de la moyenne, écarts non significatifs).

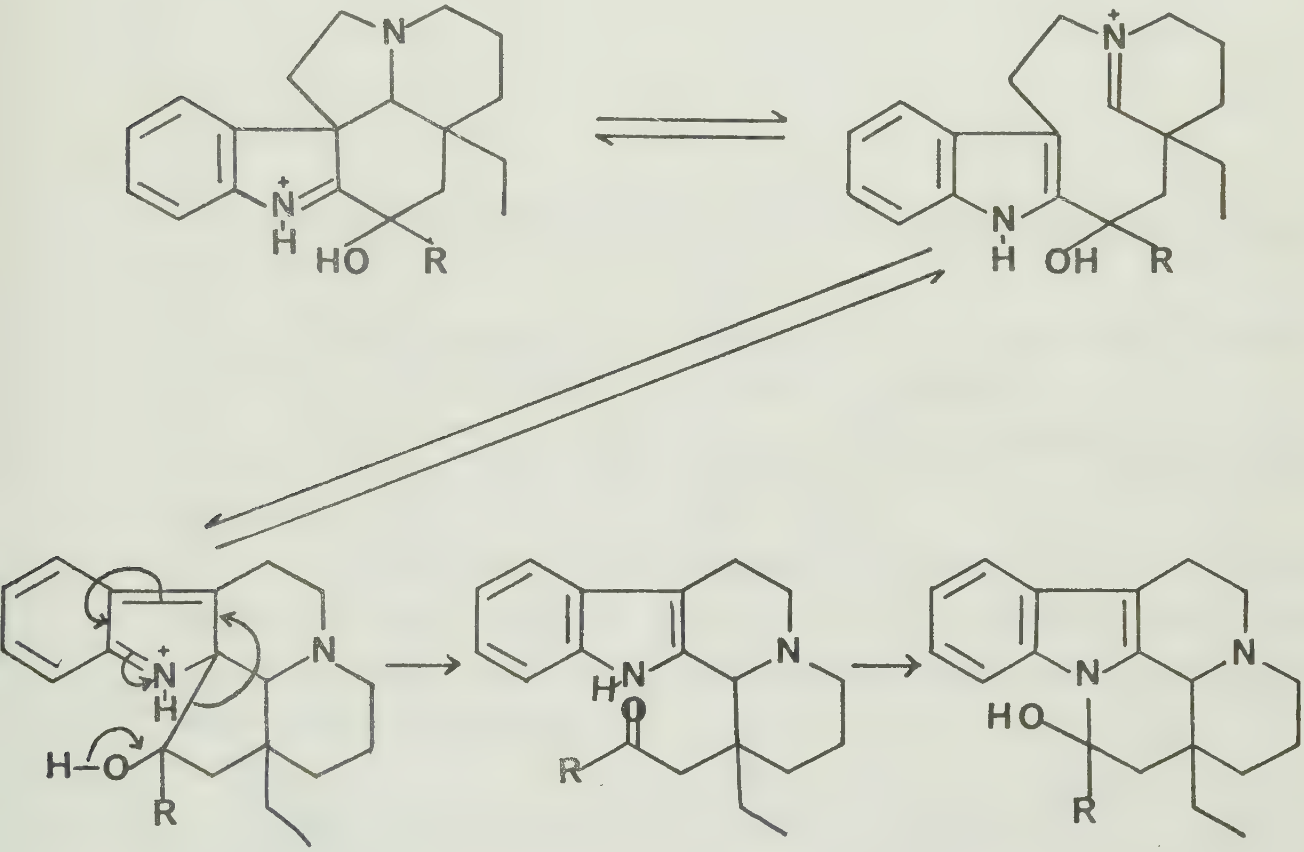
En résumé:

- la teneur en alcaloïdes totaux varie tout au long du cycle végétatif;

- on peut faire état de l'existence de races chimiques dans l'espèce Crioceras dipladeniiflorus, certains lots s'avérant, tout au long de l'année, plus riches en alcaloïdes ou en un alcaloïde particulier, la méthoxy-12 Δ14-vincamine par exemple.

En ce qui concerne les variations respectives des teneurs en tabersonine et Δ14-vincamine, il serait nécessaire de multiplier les essais sur plusieurs cycles végétatifs pour pouvoir tirer des conclusions définitives.

La composition alcaloïdique des écorces de racines et de tiges du Crioceras dipladeniiflorus s'avère donc relativement complexe. Toutefois on doit y remarquer une certaine homogénéité car, si l'on note principalement la présence d'alcaloïdes du type Δ 14-vincamine et du type tabersonine, ces deux types sont biogénétiquement liés comme cela a été montré par KUTNEY (117) pour la tabersonine et la vincamine ce qui confirmait le schéma formel proposé en 1965 par WENKERT (118).



D'ailleurs LE MEN, LEVY et coll. ont récemment montré qu'il est possible de passer par réarrangement en milieu acide de la dihydrotabersonine (vincadifformine)à la vincamine(119). Enfin l'andrangine et la criophylline (andrangine + lochnericine) témoignent de la réalité de l'intermédiaire biogénétique proposé pour expliquer le réarrangement in vivo.

Remarquons qu'il serait du plus vif intérêt de mettre en évidence une méthoxy-12 tabersonine chez Crioceras dipladeniiflorus. Il est vraisemblable que cet alcaloïde existe dans les graines de la race chimique Mvouti dont les écorces de racines sont très riches en méthoxy-12 Δ14- vincamine. Ce fait serait alors à rapprocher de ce qui a été trouvé dans le cas du Craspidospermum verticillatum : les écorces contiennent de la Δ14- vincine et les graines renferment un alcaloïde unique: la méthoxy-11 tabersonine (120).

CONCLUSION

Douze alcaloïdes ont été isolés du _Crioceras dipladeniiflorus_ huit sont nouveaux.

La détermination de la structure de ces alcaloïdes a conduit à utiliser conjointement aux méthodes classiques:

- d'une part la spectrométrie de RMN des complexes alcaloïde-sel d'Europium ce qui a permis de déterminer avec certitude la position d'un substituant sur le noyau indole.
- d'autre part la spectrométrie de RMN du ^{13}C qui a permis de résoudre la stéréochimie et de proposer deux possibilités de structure pour un alcaloïde dimère: la criophylline; cet alcaloïde constitue un type structural nouveau.

Parmi les alcaloïdes isolés quatre dérivent du Δ14- éburnane, les autres sont reliés à des types structuraux précurseurs. Il est en effet remarquable de constater -du point de vue biogénétique- la présence simultanée de tabersonine, de voaphylline, d'andrangine et de Δ14- vincamine. Il est également interessant de noter la présence d'alcaloïdes dimères qui résultent de la condensation d'unités représentatives de stades différents de la biogénèse.

★

★ ★

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Les points de fusion ont été mesurés en tube capillaire et ne sont pas corrigés; les pouvoirs rotatoires sont mesurés à l'aide d'un appareil Jouan Roussel (raie D) ou d'un polarimètre électronique Zeiss à 578 nm, dans le chloroforme à 0,5% d'éthanol (sauf indication contraire).

Les spectres UV (λnm, logε) ont été déterminés dans l'éthanol à 96° pour spectrographie à l'aide d'un Unicam SP 800. Les spectres IR ont été enregistrés sur appareil Perkin Elmer type 257 dans le chloroforme ou dans le bromure de potassium.

Les spectres de RMN ont été réalisés sur appareil Varian A 60 A, T 60 ou HA 100 avec le tétraméthylsilane comme étalon interne de référence, les déplacements chimiques sont exprimés en ppm; sauf indication contraire le solvant utilisé est le deutéro chloroforme.

Les spectres de masse ont été déterminés à l'aide d'un spectromètre AEI type MS 9 ou Atlas CH 4.

Les chromatographies sur colonne, sauf mention spéciale, ont été effectuées sur alumine Merck standardisée activité II-III ou sur silice Merck 0,05-0,2 mm.

Les chromatographies sur couches minces (CCM) sont réalisées avec le Kieselgel G selon Sthal, les chromatographies préparatives avec le Kieselgel GF 254; la révélation est effectuée

par le réactif au sulfate cérique (Ce SO_4: 250 mg, $(NH_4)_2SO_4$: 750 mg, H_2SO_4 30%: 100 ml) et par le réactif de Dragendorff.

PREMIERE PARTIE.-

OCHROSIA

OCHROSIA BALANSAE - feuilles

EXTRACTION DES ALCALOIDES TOTAUX

5 kg de feuilles broyées sont alcalinisés par 2 l. d'ammoniaque au ½; l'extraction est réalisée dans un appareil du type soxhlet par du chlorure de méthylène. La solution organique est extraite à plusieurs reprises par une solution d'acide sulfurique à 2% (v/v). Les solutions acides sont réunies, extraites par du chlorure de méthylène après alcalinisation par l'ammoniaque. Les phases organiques, lavées, séchées, sont distillées à sec; le résidu pèse 25 g. soit un rendement de 5 g/kg.

CHROMATOGRAPHIE DES ALCALOIDES TOTAUX

Les 25 g d'alcaloïdes totaux sont chromatographiés sur 670 g de silice désactivée par addition de 10% d'eau.

On élue par fractions de 500 ml.

FRACTIONS	SOLVANT	POIDS	ALCALOIDES
1-14	Benzène	0,263 g	huile
15-17	Benzène/éther 95/5	0,213 g	1
18-31	Benzène/éther 90/10	5,982 g	2, 3, 17
32-49	Ether	4,513 g	
50-53	Ether/méthanol 98/2	1,738 g	3,7,17,18
54-58	Ether/méthanol 95/5	1,204 g	mélange complexe
59-66	Ether/méthanol 90/10	2,334 g	19, 20
67-76	Ether/méthanol 80/20 puis 50/50	2,230 g	19,20,21,22
77-82	Méthanol	2,528 g	21, 22
83-95	Méthanol açétique (5%)	1,129 g	non étudié

ARICINE 1: Les fractions 15 - 17 cristallisent dans le méthanol: F 190°; $(\alpha)_D$ - 60° (éthanol, c=1).

Spectre UV: 227 (4,54), 279 (3,98)

Spectre IR (Kbr):
3390 cm^{-1} (N - H) 2760 à 2870, bandes de Bohlman; transquinolizidine, 1695 & 1635 cm^{-1} carbométhoxyle conjugué.

Spectre de masse: pics à m/e 382 (M^+), 281, 253, 214, 200, 199, 186.

Spectre de RMN:

d	1,36 (J = 6,2 Hz)	3 H	CH_3 18
s	3,68	3 H	Carbométhoxyle
s	3,76	3 H	Méthoxyle en 10
m	4,5	1 H	H 19
s	7,51	1 H	H 17
m	6,60 - 7,30	3 H	3 H aromatiques

identifiée par rapport à un échantillon de référence.

ISORESERPILINE 2: Les fractions 18-31 cristallisent dans l'éther F 210 - 212° $(\alpha)_D$ - 88° (Ethanol, c = 1).

Spectre UV: 228 (4,58), 300 (4,01), 304 (4,02).

Spectre IR: ($CDCl_3$) 3480 (N-H) 2760 à 2840: transquinolizidine; 1695 et 1630 cm^{-1}: carbométhoxyle conjugué.

Spectre de masse: pics à m/e 412 (M^+), 311, 283, 244, 230, 229, 216.

Spectre de RMN:

d	1,39 (J = 6,2Hz)	3 H	CH_3 18
s	3,76	3 H	carbométhoxyle
2 s	3,89 et 3,91	2 x 3H	méthoxyles en 10 et 11
m	4,45	1 H	H 19
s	7,60	1 H	H_{17}
2 s	6,81 et 6,93	2 x 1H	H9 et 12
s	7,89	1 H	N-H indolique

spectres superposables à ceux d'un échantillon de référence.

RESERPILINE 3 - Les fractions 32 - 49 reprises par le benzène laissent cristalliser de l'ellipticine 17. Les eaux mères sont épuisées par l'hexane, par concentration de l'hexane on obtient la réserpiline cristallisée:

F 131° $(\alpha)_D$ - 32° ($CHCl_3$, c = 1).

Spectre UV: 229 (4,57), 300 (4,03), 304 (4,03).

Spectre IR ($C Cl_4$): 3480 (N-H), 1700 et 1635 cm^{-1}, carbométhoxyle conjugué.

Spectre de masse: pics à m/e 412 (M^+), 311, 283, 244, 230, 229, 216.

Spectre de RMN:

d	1,32 (J = 6,2 Hz)	3 H	CH_3 18
s	3,75	3 H	carbométhoxyle
2 s	3,89 et 3,92	2 x 3H	méthoxyles en 10 et 11
m	4,5	1 H	H 19
2 s	6,87 et 6,92	2 x 1H	H aromatiques 9 et 12
s	7,55	1 H	H_{17}
s	7,93	1 H	N - H indolique

DIMETHOXY-PICRAPHYLLINE 7

Isolement.-

Les fractions 50-53 sont constituées par un mélange, caractérisé par la présence de la diméthoxy-picraphylline, facilement mise en évidence en CCM par la coloration violette obtenue par révélation au réactif au sulfate cérique.

Ces fractions 50-53 traitées par de l'éther laissent cristalliser successivement un premier jet de 378 mg d'ellipticine 17, puis un deuxième jet de 140 mg de méthoxy-ellipticine 18 presque pure. Les eaux mères (1,104 g) enrichies en diméthoxy-picraphylline sont mises en solution dans le mélange méthanol/chloroforme 70-30 et passées sur une colonne de 90 g de "Sephadex" LH 20. On recueille des fractions de 5 ml qui sont analysées en CCM et réunies en quatre groupes:

I	119 mg	impuretés
II	661 mg	diméthoxy-picraphylline et réserpiline
III	183 mg	méthoxy-ellipticine et ellipticine
IV	49 mg	non alcaloïdique

La fraction II est chromatographiée sur 20 g de silice désactivée par addition de 10% d'eau.

1 - 3	benzène	0	
4 - 6	éther	52 mg	diméthoxy-picraphylline
7 - 11	éther	173 mg	7 + réserpiline
12 - 14	éther/méthanol 95/5	367 mg	réserpiline

Les fractions 4 - 6 de la précédente chromatographie cristallisent dans l'éther.

$F = 183 - 185°$ $(\alpha)_D - 50°$ ($CHCl_3$, c = 1)

Spectre UV: 214 (4,46), 342 (4,20).

Spectre IR (KB_r): 3380 cm^{-1} (N-H), 1700 et 1625 cm^{-1} (carbométhoxyle conjugué).

Spectre de masse: pics à m/e 442 (M^+), 411, 385, 288, 252 232, 224, 218, 210, 209, 204, 203, 188.

Spectre de RMN :

d	1,30 (J = 6,5 Hz)	3 H	CH_3 18
s	2,03	3 H	$N_b - CH_3$
s	3,91	6 H	méthoxyles 10-11
s	3,69	3 H	carbométhoxyle
2 s	6,76 et 6,90	2 x 1H	H_9 et 12
s	7,45	1 H	H 17

DIMETHOXY-PICRAPHYLLINE 7 → ISORESERPILINE 2

1°) Réduction par borohydrure de potassium: diméthoxypicraphyllinols.

19 mg de 7 sont dissous dans 20 ml de méthanol. On ajoute 120 mg de KBH_4. Après trois heures d'agitation, la solution est concentrée, diluée par 15 ml d'eau et acidifiée par HCl jusqu'à pH 1. Après alcalinisation par de la soude, on extrait par 5 fois 5 ml de CH_2Cl_2. Les solutions chlorométhyléniques sont lavées à l'eau, séchées sur SO_4Na_2 sec, et distillées. Le résidu : 18 mg est examiné en UV: λmax à 230-305 nm.

2°) Pyrolyse des chlorhydrates de picraphyllinols: Isoréserpiline.

Une goutte d'acide chlorhydrique concentré est ajoutée au dérivé précédent repris par le minimum d'éthanol. La solution est introduite dans un tube à sublimation et distillée jusqu'à siccité. Le tube à sublimation est porté sous vide poussé dans un four chauffé à 280°. On recueille 5 mg d'une huile constituée par de l'isoréserpiline (spectre IR, de masse et de RMN).

RESERPILINE 3 → DIMETHOXYPICRAPHYLLINE 7

1°) Acétoxyréserpiline 37.

A une solution de 7 g de 3 dans 100 ml de benzène anhydre refroidi on ajoute 17 g de tétracétate de plomb. Après une heure d'agitation, le mélange réactionnel est versé sur une solution de $KHCO_3$ à 10%. La phase benzénique est décantée, lavée deux fois par une solution de $KHCO_3$, séchée sur sulfate de sodium anhydre et distillée à sec. On obtient un résidu de 5,2 g qui est chromatographié sur 200 g d'alumine. Par élution à l'éther, on obtient 1,615 g d'acétoxyréserpiline pure.

Spectre UV: λ max à 235 et 300 - 305 nm

Spectre IR ($CHCl_3$): 1745 cm^{-1} (acétoxy) 1695 et 1635 cm^{-1} (carbométhoxyle conjugué).

Spectre de RMN:

d	1,3 (J = 6,5 Hz)	3 H	CH_3 18
s	2,05	3 H	acétoxy
s	3,71	3 H	carbométhoxyle
2 s	3,83 et 3,90	2 x 3H	méthoxyles 10 et 11
m	4,5	1 H	H 19
3 s	7,05 - 7,25 et 7,5	3 x 1H	H_9, 12 et 17

2°) Iodométhylate de l'acétoxyréserpiline 38

A la solution d'acétoxyréserpiline dans le benzène on ajoute 10 ml d'iodure de méthyle et on laisse à la température ambiante pendant 48 heures. L'iodométhylate cristallise: 2,250 g.

Spectre UV: λmax à 224, 243, 303 - 310, 335.

Spectre IR: 1750, 1695 et 1620 cm^{-1}

Spectre de RMN:

d	1,34 (J = 6,2 Hz)	3 H	CH_3 18
2 s	2,19 et 3,18	2 x 3H	Nb méthyl et acétoxy
s	3,7	3 H	carbométhoxyle
s	3,93	6 H	méthoxyles 10 et 11
2 s	7,07 et 7,24	2 x 1H	H_9 et 12
s	7,36	1 H	H 17

3°) Diméthoxy-picraphylline 7 - 500mg de 38 sont dissous dans 40 ml de CH_3COOH à 10%. On ajoute 160 mg d'acétate de sodium et on porte la solution à l'ébullition à reflux pendant 4 heures. Après refroidissement, la solution est alcalinisée par l'ammoniaque et extraite successivement par le benzène puis par le chlorure de méthylène. Ces solutions distillées laissent des résidus de 80 mg pour le benzène et 285 mg pour le chlorure de méthylène.

Le résidu de l'extraction benzénique est chromatographié sur 2,5 g de silice. Par élution à l'éther on obtient 18 mg de diméthoxy-picraphylline pure: $(\alpha)_D$ - 50° ($CHCl_3$) dont les spectres IR, UV, RMN et de masse sont en tous points superposables à ceux de la diméthoxy-picraphylline naturelle.

IODOMETHYLATE DE DIMETHOXY-PICRAPHYLLINE 45

Le résidu de l'extraction chlorométhylénique cristallise dans le chloroforme:

F: 205 - 207° $(\alpha)_{578}$ = - 85° (pyridine c = 0,6).

Spectre UV: 220 (4,55) , 335 (4,36)

Spectre IR: Bandes à 3180, 1710, 1655 et 1630 cm^{-1}.

Spectre de RMN $(CD_3)_2CO$:

d	1,43 (J = 6,5Hz)	3 H	CH_3 18
s	2,73	6 H	N diméthyl
3 s	3,70, 3,76, 3,84	3x3H	2 $O-CH_3$ (10,11) + $COOCH_3$
m	4,6	1 H	H 19
2 s	7,11 et 7,14	2x1H	H_9 et 12
s	7,66	1 H	H_{17}

ELLIPTICINE 17 :

- Les fractions 32-49 et 50-53 de la chromatographie des alcaloïdes totaux ont fourni par cristallisation dans le benzène et dans l'éther, 1,720 g d'ellipticine cristallisée: F 310 - 315°; M^+ 246.

Spectre UV: 227 - 234 (4,32), 238 (4,36), $245_{(e)}$ (4,31), 276 (4,74), 287 (4,90), 295 (4,88) 333 (3,71), 343 $_{(e)}$ (3,47), 384 (3,61), 401 (3,58)

Spectre de RMN $(CDCl_3 + C_5D_5N)$:

2 s	2,63 et 3,05	2x3H	méthyles en 5 et 11

METHOXY-9 ELLIPTICINE 18:

Le deuxième jet de cristallisation dans l'éther des fractions 50-53 est recristallisé dans le benzène. Par cristallisations successives, on obtient un produit pur en CCM

F : 295° M^+ 276

Spectre UV: 246 (4,42), 277 (4,66), 294 (4,73), 337 (3,81) 353 (3,54), 403 (3,57).

Spectre de RMN ($CDCl_3$ + C_5D_5N):

2 s	2,71 et 3,20	2 x 3H	méthyles en 5 et 11
s	3,86	3 H	méthoxyle en 9

Nb - METHYL TETRAHYDRO - 1,2,3,4 METHOXY-9 ELLIPTICINE:

A une solution de 50 mg de 18 dans 10 ml d'acétone, on ajoute 1 ml de ICH_3 et on laisse à la température ambiante pendant 24 heures. L'iodométhylate cristallise et est essoré (51 mg). A la solution de l'iodométhylate précédent dans le méthanol on ajoute un excès de KBH_4, et on agite pendant une heure. Le méthanol est évaporé à froid sous pression réduite, on dilue à l'eau et extrait par le chlorure de méthylène. Le solvant lavé à l'eau, séché sur sulfate de sodium anhydre et distillé laisse un résidu de 42 mg.

Spectre UV: 234 (4,61), 248 (4,59), 269 (4,43), 293 (4,12), 302 (4,35), 342 (3,46), et 356 (3,46).

Spectre de RMN ($CDCl_3$):

2 s	2,28 et 2,44	2 x 3H	méthyles en 5 et 11
s	2,63	3 H	Nb - méthyle en 3
s	3,66	2 H	CH_2 en 4
s	3,87	3 H	méthoxyle en 9

DIHYDRO-1,2 ELLIPTICINE 19 et METHOXY-9 DIHYDRO-1,2 ELLIPTICINE 20:

Une partie (776 mg) des fractions 59-66 est déposée sur des plaques épaisses de Kieselgel neutre (e = 0,5 mm). Les chromatoplaques sont développées avec le mélange: $CHCl_3$ - MeOH 90-10 + 0,6% de NH_4OH. On récupère 104 mg du mélange 19 + 20.

Spectre UV du mélange:

λ max. à 240, 278, 315, 380 ép. à 295

Spectre de RMN du mélange: ($CDCl_3$ + C_5D_5N):

2 s	2,41 et 2,92	méthyles 5 et 11
s	3,82	méthoxyle en 9 de 20
m	2,7 à 3,2	4 protons en 1 et 2

TETRAHYDRO-1,2,3,4 ELLIPTICINE 21 - TETRAHYDRO-1,2,3,4 METHOXY - 9 ELLIPTICINE 22

Les fractions 77-82 de la chromatographie des alcaloïdes totaux fournissent par cristallisation dans le benzène 1,3 g de cristaux. Il s'agit d'un mélange inséparable de 21 et 22; on observe deux taches en CCM avec pour solvant de migration le mélange: éther-hexane (70-30); 90, méthanol: 10,NH_4OH 0,2.

Spectre UV du mélange:

228 (e), 242, 249, 262, 294, 326 (e), 341 (e)

Spectre de RMN du mélange ($CDCl_3$ + C_5D_5N):

2 s	2,40 et 2,67	méthyles 5 et 11
m	2,7 à 3,2	4 H en 1 et 2
s	4,12	2 H en 3
s	3,84	méthoxyle 9 de 21

TETRAHYDRO - 1,2,3,4 ELLIPTICINE 21

160 mg de platine Adams sont agités en suspension dans 40 ml d'éthanol, sous atmosphère d'hydrogène jusqu'à saturation. On introduit ensuite 100 mg d'ellipticine. L'agitation sous atmosphère d'hydrogène est poursuivie 48 heures. Après élimination du catalyseur, la solution est évaporée à sec et le résidu chromatographié sur colonne de silice.

FRACTIONS	SOLVANT	POIDS	PRODUITS
1 - 6	Ether	41 mg	Ellipticine
	Ether-méthanol 95/5		
7 - 11	Ether-méthanol 90/10	32 mg	Ellipticine + dihydro-ellipticine
12 - 15	Ether-méthanol 90/10	19 mg	Tétrahydro-1,2,3,4 ellipticine

Spectre UV: λmax à 228 (ép.) 242, 249, 263, 284 (ép.), 294, 316 (ép.), 327, 341.

Spectre de RMN ($CDCl_3$ + C_5D_5N)

2 s	2,40 et 2,66	2 x 3H	méthyles 5 et 11
m	2,7 à 3,2	4 H	4 H en 1 et 2
s	4,12	2 H	2 H en 4

TETRAHYDRO-1,2,3,4 METHOXY-9 ELLIPTICINE 22

22 mg de méthoxy-9 ellipticine sont agités en atmosphère d'hydrogène, en présence de platine Adams pendant 96 heures. Après élimination du catalyseur et évaporation du solvant, un examen en CCM du résidu montre que l'hydrogénation est pratiquement totale.

Spectre de RMN ($CDCl_3 + C_5D_5N$):

2 s	2,40 et 2,66	2 x 3H	méthyles 5 et 11
m	2,7 à 3,2	4 H	4 H en 1 et 2
s	3,85	3 H	méthoxyle en 9
s	4,16	2 H	2 H en 4

OCHROSIA BALANSAE: écorces

Isolement et caractérisation des alcaloïdes:

Les alcaloïdes des écorces d'Ochrosia balansae sont extraits de manière classique. Les écorces pulvérisées sont humectées par de l'ammoniaque au demi et extraites par du chlorure de méthylène dans un appareil de type Soxhlet. Par refroidissement la solution CH_2Cl_2 laisse cristalliser un produit jaune qui est isolé, recristallisé dans le benzène: ellipticine 17.

L'extraction est poursuivie comme précédemment (feuilles), rendement en AT: 1,2%.

Les alcaloïdes totaux sont chromatographiés sur 30 fois leur poids de silice désactivée par addition de 10% d'eau. L'élution par solvants de polarité croissante fournit successivement:

mélange benzène-éther (19/1): aricine : 1
mélange benzène-éther (9/1): isoréserpiline: 2

Par le mélange benzène-éther (1:1) puis par l'éther pur est élué le mélange d'ellipticine 17 et de diméthoxy-picraphylline 7. Ce mélange dissous dans le benzène laisse cristalliser l'alcaloïde 17 pur. Les eaux-mères sont évaporées et épuisées par l'hexane. Par concentration l'hexane laisse cristalliser l'alcaloïde 7 pur.

*****

OCHROSIA MULSANTI

Les écorces pulvérisées (130 g) sont extraites selon le procédé décrit plus haut; le résidu d'alcaloïdes totaux pèse 1,32 g, soit un rendement de 1%.

Les AT repris par le méthanol laissent cristalliser 310 mg d'ellipticine 17. Les eaux mères sont ensuite chromatographiées sur 30 fois leur poids d'alumine.

Par élution à l'éther on isole successivement:

isoréserpiline 2
réserpiline 3
diméthoxy-picraphylline 7
ellipticine 17

Le mélange 3, 7, 17 est soumis à une chromatographie préparative sur couche mince de gel de silice, pour isoler à l'état pur 3 et 7.

Le mélange éther méthanol (99,5/0,5) puis 99/1) élue un mélange 7, 13, 23.
23 et 13 sont séparés par chromatographie sur couche mince (SiO_2 e = 0,25; $CHCl_3$ - MeOH 92 - 8; NH_4OH 0,25%).

OCHROPPOSININE 13 : amorphe $(\alpha)_{578}$ - 18° ($CHCl_3$ c = 1)

Spectre UV: 228 (4,37), 284 (3,76), 292 (3,79), 296 (3,80).

Spectre de masse: pics à m/e 358 (M+), 357 (100%), 327, 313, 28[illegible], 230, 216.

Spectre de RMN:

t	0,88	3 H	CH_3 de l'éthyle
s	2,87	1 H	- OH (disparaît avec D_2O)
2 s	3,87 3,98	2 x 3H	2 méthoxyle
2 s	6,98 7,08	2 x 1h	H 9 et 12
s	8,43	1 H	N - H indolique

Nb OXYELLIPTICINE 23 amorphe

Spectre UV: (HCl) λ max. 240, 268 (e), 278, 288, 295 et 330
245 (e), 307, 350 (e).

Spectre de masse: pics à m/e 262 (M^+), 246, 245, 131.

Réduction de 23 → 17 du zinc en poudre fine (5 mg) est ajouté à la solution de 23 dans le méthanol (10 ml) + HCl (0,5 ml). Après 4 heures d'agitation le mélange est refroidi et alcalinisé par une solution de NaOH. On extrait au CH_2Cl_2. Le résidu obtenu est identifié à l'ellipticine 17 (CCM, IR, UV).

Essais de Nb Oxydation 17 → 23
A une solution de 310 mg de 17 dans 50 ml d'un mélange $CHCl_3$ - MeOH (50-50) on ajoute 10 ml $H_2O_2$110 v.
Après 150 heures de contact dont 30 à reflux, l'excès d'eau oxygénée est détruit par agitation avec du charbon palladié. Le filtrat distillé à sec est chromatographié sur alumine. Le mélange Et_2O - MeOH (99-1) élue l'ellipticine, avec 5% de MeOH on élue un produit:

Spectre UV: 241, 288, 295, 305, 317, 352.

Spectre IR: 1160 - 1180 cm^{-1} (+)

Un deuxième essai est conduit de façon identique en ajoutant CH_3COOH (10 ml). Après 200 heures de contact et destruction de H_2O_2 en excès, une chromatographie préparative sur couche mince de gel de silice permet d'isoler un produit:

Spectre UV: 240, 275, 285, 293, 316 et 330.

Spectre de masse: pics à m/e 262 (M^+), 246, 245, 231.

Spectre IR: NbOxy à 1170 cm^{-1} (++)

Dihydro-ellipticine 19, tetrahydro-ellipticine 21, élués par le mélange éther-MeOH (90 - 10) séparés par chromatographie sur couche mince.

*****

OCHROSIA CONFUSA

Les alcaloïdes totaux sont obtenus par la méthode habituelle et sont filtrés sur 10 fois leur poids d'alumine ce qui permet de séparer trois fractions:

- fraction A: (benzène) : impuretés
- fraction B: (éther)
- fraction C: (méthanol): produits polaires non étudiés.

La fraction B est chromatographiée sur 30 fois son poids de silice désactivée par addition de 10% d'eau. L'élution par solvants de polarités croissantes conduit à recueillir des fractions de composition encore trop complexe pour que des produits purs puissent être séparés, à l'exception de l'ellipticine 17 qui cristallise dans le benzène, F= 310-315°,

A côté de l'ellipticine, les fractions éther-méthanol (99-1) fournissent l'alcaloïde 9 obtenu par chromatographie préparative sur couche mince (SiO_2 e = 0,25 $CHCl_3$-MeOH 92-8)

RAUVOXINE 9: cristallise dans le méthanol
F 210° $(\alpha)_{578}$ + 98° ($CHCl_3$, c = 1).

Spectre UV: 218 (4,44) 280 (3,70) ép. à 245 et 300

Spectre IR: bandes à 2848, 2835 1714 (double bande) et 1635 cm^{-1}

Spectre de masse: pics à m/e 428 (M^+), 223 et 69

Spectre de RMN:

d	1,23	3 H	méthyle 18
s	3,58	3 H	carbométhoxyle
2 s	3,88 et 3,90	2 x 3H	méthoxyles 10 et 11
2 s	6,60 et 7,02	2 x 1H	H_9 et 12
s	7,45	1 H	H 17
s	9,06	1 H	NH indolique

Des fractions éther-méthanol (95-5) sont séparées par la même méthode: la carapanaubine 8 et l'ochrolifuanine A 28 a

CARAPANAUBINE 8 : cristallise dans le mélange méthanol-éther

F 218 - 219° $(\alpha)_{578}$ - 115° ($CHCl_3$, c = 1,05).

Spectre UV: 218 (4,44) 280 (3,70) ép. à 245 et 300.

Spectre de masse: pics à m/e 428 (M^+) 223 et 69.

Spectre de RMN:

d	1,40	3 H	CH_3 18
s	3,61	3 H	carbométhoxyle
2 s	3,90 et 3,92	2 x 3H	méthoxyles en 10 et 11
2 s	6,60 et 6,76	2 x 1H	H_9 et 12
s	7,52	1 H	H_{17}
s	9,21	1 H	N H indolique

OCHROLIFUANINE A 28 a amorphe $(\alpha)_{578}$ + 15° (Ethanol, c=1).

Spectre UV: 228 (4,73), 284 (4,20), 291 (4,13).

Spectre de RMN:

t	0,73	3 H	CH_3 18
m	6,95 à 7,5	8 H	8 H aromatiques
2 s	7,90 et 8,53	2 x 1H	2 NH indolique
s	1,50	1 H	1 NH non indolique

Spectre de masse: pics à m/e 438 (M^+) 267, 253, 185, 171.

Les fractions éther-méthanol (90-10) contiennent au moins quatre alcaloïdes, deux ont été isolés par chromatographie préparative.

DEHYDRO-3,4 OCHROLIFUANINE 30 amorphe

Spectre UV: λ max 227, 283, 315; milieu acide: 220, 248, 270, 281, 288, 354.

Spectre de masse: pics à m/e 436 (M^+), 275, 251 (100%), 248, 237, 223, 221, 185, 184, 169, 156, 154, 143, 124.

METHOXY-10 DIHYDROCORYNANTHEOL 12 cristallise dans le benzène
F 166-167° $(\alpha)_D$ - 8° ($CHCl_3$, c = 1).

Spectre UV: 227 (4,43), 280 (3,93)

Spectre IR (KBr): 3472 et 3300 cm^{-1} (-OH et N-H), 2857 à 2747: bandes de Bohlman: transquinolizidine.

Spectre de RMN:

t	1,0 (J = 7)	3 H	CH_3 de l'éthyle
s	3,79	3 H	méthoxyle
m	7-7,5	3 H	3 H aromatiques
s	8,20	1 H	N-H indolique

Spectre de masse: pics à m/e 328 (M^+), 327, 283, 281, 255, 214, 200, 199, 186.

Tous les alcaloïdes d'O. confusa ont été identifiés par comparaison avec des échantillons de référence (CCM, IR, SM, PF, RMN).

OCHROSIA BREVITUBA

500 g. de feuilles broyées sont extraites par l'éther de pétrole en appareil de type Soxhlet, puis par CH_2Cl_2. La poudre, séchée, alcalinisée (NH_4OH 50%: ½), est extraite par CH_2Cl_2. Pour la suite de l'extraction: cf. O. balansae. Purification: Les A.T. sont repris par HCl 5% et la solution acide est lavée à trois reprises par l'éther de pétrole. Après alcalinisation (NH_4OH) et extraction (CH_2Cl_2) on a un résidu de 492 mg.

Après filtration sur alumine et élimination des produits polaires (MeOH), l'éluat éthéré est chromatographié sur 60 vol.Al_2O_3.

- DESCARBOMETHOXY DIHYDROGAMBIRTANNINE 27 5 mg, éluée par le mélange benzène éther 50-50.

  amorphe $(\alpha)_{578}$ - 254° (Ethanol, c = 0,5)

  Spectre UV: 226 (4,27), 273 (3,55), 283 (3,55), 291 (3,47)

  Spectre de masse: pics à m/e 274 (M^+), 170, 164, 144, 143.

  Spectre de RMN: m 6,8 à 7,5 8 H 8 H aromatiques

  s 8,05 1 H N-H indolique.

- OCHROLIFUANINE A 28a éluée en mélange par l'éther, isolée par chromatographie préparative sur couches minces (e=0,25, $CHCl_3$Me OH 90 - 10).
- OCHROLIFUANINE B 28b éluée par le mélange éther méthanol (99,5-0,5) isolée par préparatives.

  28a et 28b ont été identifiés par comparaison avec des échantillons authentiques.

OCHROSIA SEVENETI (écorces).

L'extraction est réalisée de la même façon que pour O. brevituba rendement en AT: 0,5%.

Les AT sont chromatographiés sur alumine, les fractions éluées au $CHCl_3$ sont réunies et à nouveau chromatographiées (sur 60 v) par élution au CH_2Cl_2 on élue

Alcaloïde 312: M^+ 312

Spectre UV: max à 225, 255, 292, 304, 372, 378, 396.

Les fractions éluées par $CHCl_3$ 1 et 2% MeOH de la première chromatographie sont chromatographiées sur alumine désactivée à 6%, on isole ainsi l'ochrolifuanine A 28a

feuilles: des techniques analogues permettent d'isoler la descarbométhoxydihydrogambirtannine.

DEUXIEME PARTIE.

CRIOCERAS

ECORCES DE RACINES.

Extraction des alcaloïdes totaux.

13 kg d'écorces de racines broyées sont alcalinisées par NH_4 OH au 1/2; l'extraction est réalisée dans un appareil de type soxhlet par CH_2Cl_2. La solution organique est extraite une dizaine de fois par une solution aqueuse HCl 10%. Les phases aqueuses réunies sont extraites par CH Cl_3 après alcalinisation par NH_4OH; la solution chloroformique des bases est séchée sur Na_2SO_4 anhydre et distillée à sec; la fraction A ainsi obtenue pèse 41,5 g.

La solution chlorométhylénique présente encore une réaction de Mayer positive; elle est concentrée, puis diluée par cinq fois son volume d'éther; on épuise alors par HCl 10%. Les eaux acides traitées comme précédemment laissent un résidu pesant 41 g (fraction B).

Traitement de la fraction A.

41,5 g sont filtrés sur 400 g d'alumine et élués successivement par le benzène et le méthanol.

1°) L'éluat benzénique (18,23 g) fournit par simple concentration 7,76 g de cristaux dont l'analyse en CCM montre qu'il s'agit d'un mélange, celui-ci est chromatographié sur 30 fois son poids d'alumine.

Δ14-VINCAMINE 46 : éluée par les mélanges C_6H_6- CH_2Cl_2 95-5 puis 50-50; elle cristallise dans l'acétone et le méthanol:

F 218° $(\alpha)_D$ = + 116° (CH Cl_3, c = 0,75).

Spectre UV: 222 (4,49), 270 (3,93), 279 (3,88), 289 (3,72).

Spectre de masse: pics à m/e 352 (M^+), 351, 337, 323, 319, 305, 293, 292, 284, 263, 250, 224, 170, 144, 143.

Spectre de RMN:

t	1,01 (J = 7,5)	3 H	CH_3 18
2 qd	1,65 et 2,0	2 H	CH_2 19
s	2,36	2 H	CH_2 17
m	3,08	2 H	CH_2 3
s	3,87	3 H	carbométhoxyle
s	4,1	1 H	H 21
sy AB	5,60 et 5,80 (J = 10)	2 H	2 H 14 et 15
m	7,1	3 H	H aromatiques 10, 11, 12
m	7,45	1 H	H aromatique 9

Hydrogénation catalytique de 46 → vincamine 56.

50 mg de 46 sont dissous dans 10 ml d'éthanol additionnés de 30 mg d'acide tartrique; on ajoute 50 mg de platine Adams (81,5%) et agite sous atmosphère d'hydrogène pendant 2 heures. Après filtration du catalyseur sur Célite 545, le filtrat est évaporé à sec,le résidu cristallise dans l'acétone.

F: 232°

identifié à la vincamine 56 (PF, IR, RMN, CCM).

EPI-16 Δ14-VINCAMINE 47

Eluée par CH_2Cl_2 elle cristallise dans l'acétone:

F 185° $(\alpha)_D$ + 30° (CH Cl_3, c = 1,2).

Spectre UV: 222 (4,28), 271 (3,84), 278 (3,77), 290 (3,59).

Spectre de masse: pic à m/e 352: M^+ spectre identique à celui de la Δ 14-vincamine 46.

Spectre de RMN:

t	0,93 (J = 7,5)	3 H	CH_3 18
2 qd	1,45 et 1,80	2 H	CH_2 19
sy.AB	1,99 et 2,57 (J=14)	2 H	CH_2 17
m	3,02	2 H	CH_2 3
s	3,38	3 H	carbométhoxyle
s	3,74	1 H	H 21
sy.AB	5,24 et 5,46 (J=10)	2 H	14 et 15
m	7,1	2 H	2 H aromatiques 10 et 11
m	7,45	2 H	2 H aromatiques 9, 12

Deshydratation de 46 et 47: apoΔ14-vincamine 51

200 mg de 46 sont triturés avec 20 ml HCl 11N, après 96 heures de contact le mélange est alcalinisé par Na OH en présence de glace, dilué et extrait à plusieurs reprises par l'éther. Les 179 mg récupérés sont chromatographiés sur 4 g d'alumine; le mélange hexane-benzène 50-50 élue l'alcaloïde 51: spectres IR, UV, de RMN et de masse superposables à ceux du produit naturel. La même réaction appliquée à l'épimère 47 donne un résultat analogue.

Deshydratation par l'acide trifluoracétique

100 mg de 46 et de 47 sont dissous dans 10 ml de CF_3COOH, après 30 mn de contact à froid on dilue et alcalinise par la soude. L'extraction par CH_2Cl_2 fournit un résidu presque pur; une chromatographie préparative ($CHCl_3$-MeOH 94-6, SiO_2 GF254) permet d'isoler 51 pur, amorphe.

Réversibilité de la réaction 51 ⟶ 46 + 47.

180 mg de 51 sont dissous dans le mélange acétone: 8 ml, HCl pur: 6,4 ml, eau: 1,6 ml; après 4 heures de reflux l'analyse en CCM du milieu montre la présence d'un mélange 51,46,47 en proportions sensiblement égales. Les trois produits sont séparés par chromatographie sur colonne d'alumine et identifiés par rapport à des échantillons de référence (Rf en CCM, IR superposables).

VOAPHYLLINE 48.

Une partie des eaux mères de cristallisation des alcaloïdes 46 et 47, soit 6,4 g est chromatographiée sur 250 g d'alumine; le mélange CH_2Cl_2-MeOH (99,5-0,5) élue 356 mg d'un produit impur qui est soumis à une chromatographie préparative sur gel de silice (e=0,5, $CHCl_3$-MeOH-NH_4OH 95-5-0,25); on récupère 280 mg de l'alcaloïde 48 qui cristallise dans le méthanol:

F 164 166° $(\alpha)_{578}$ + 28°

Spectre UV: 230 (4,52), 285 (3,90), 290 (3,86).

Spectre de masse: pics à m/e 296 (M^+), 267, 249, 210, 156, 148, 144, 143, 140 (100%), 122.

Spectre de RMN:

t	0,72 (J = 7,5)	3 H	CH_3 de l'éthyle en 20
m	6,9 à 7,6	4 H	4 H aromatiques
s	7,75	1 H	N-H indolique

Les mélanges CH_2Cl_2-MeOH 99-1 et 98-2 éluent successivement 46 46+47 et 47; au total 2,06 g de 46 et 6,82 g de 47 ont été cristallisés à partir de la fraction A.

2°) L'éluat méthanolique de composition complexe est chromatographié sur alumine, on récupère ainsi 900 mg de 46 et 47 (mélange) 500 mg de vobtusine 53 et de petites quantités des alcaloïdes 49 et 51. Le reste des produits, très polaire, n'est pas étudié.

Traitement de la fraction B.

La fraction B est filtrée sur 400 g d'alumine (élution par le benzène puis par le méthanol).

Fractions	Solvant	Poids	Alcaloïdes
1	benzène	11,54 g	46,47,49,51,52
2	"	3,59 g	50,51,52
3-7	"	8,26 g	46,47,50
8	"	1,23 g	46,47
9	méthanol	10,5 g	53 + non étudié

Les fractions sont étudiées séparément:

a) fraction 1: Après une purification par passage à l'état de tartrates puis retour à l'état de bases, une partie (7,60 g) de la fraction 1 est chromatographiée sur 230 g d'alumine; on élue par fractions de 250 ml.

Fractions	Solvant	Poids	Alcaloïdes
1-2	benzène	0,38 g	huile non alcaloïdique
3-9	"	2,64 g	49
10-22	"	1,69 g	49 + 51
23-24	"	0,71 g	49 + 51 + 52
25-29	benzène CH_2Cl_2 (90-10)	1,69 g	49, 51 + 52
30-31	(50-50)		
32-33	"	0,13 g	52
34-35	"	0,45 g	46 + 47 + 50 + 52

TABERSONINE 49 Isolée pure, amorphe (F 3-9); elle est cristallisée sous forme de chlorhydrate dans le mélange méthanol éther.

F 196° $(\alpha)_D$ - 310° (MeOH)

Spectre UV: 228 (4,03), 295 (4,09), 330 (4,20).

Spectre de masse: pics à m/e 336 (M^+), 196, 168, 154, 136, 122, 121, 107, 92.

Spectre de RMN:

t	0,61	3 H	CH_3 de l'éthyle
s	3,76	3 H	carbométhoxyle
m	6,5 à 7,3	4 H	4 H aromatiques
s	9,05	1 H	N-H indolique

APO Δ14-VINCAMINE 51

Les fractions 10-22 sont chromatographiées sur une colonne de silice et éluées par des solvants de polarité croissante: le mélange CH_2Cl_2 MeOH (99,5-0,5) élue 567 mg de 51 pur, amorphe:

$$(\alpha)_{578} + 150° \quad (CHCl_3, \quad c=1,13).$$

Spectre UV: 229 (4,56), 275 (4,14), 317 (3,90).

Spectre de masse: pics à m/e 334 (M^+), 319, 305 et 266.

Spectre de RMN:

t	1,05 (J = 7,5)	3 H	CH_3 18
q	1,80 (J = 7,5)	2 H	CH_2 19
m	3,08	2 H	CH_2 3
s	3,93	3 H	carbométhoxyle
s	4,24	1 H	H 21
sy. AB	5,32 et 5,50 (J = 10)	2 H	2 H 14 et 15
m	7,1 à 7,35	4 H	4 H aromatiques

Stabilité de la Δ14-vincamine et de l'épi-16 Δ14-vincamine:

20 mg de 46 et de 47 sont dissous dans 10 ml de HCl N; après 97 heures de contact les solutions de chlorhydrates sont extraites par l'éther après alcalinisation par NH_4OH; l'analyse en CCM des produits obtenus montre que 46 et 47 n'ont pas été altérés (spectres de RMN superposables à ceux d'échantillons de 46 et de 47 non traités). La même expérience a été conduite dans une solution d'acide tartrique, avec des résultats identiques.

DITABERSONINE 52 Isolée par chromatographie préparative à partir des fractions 25-31; elle n'a pu être obtenue cristallisée.

$(\alpha)_{578} = - 71° \pm 7$ ($CHCl_3$, c = 1,4).

Spectre UV: λ max à 226, 300 et 329.

Spectre de masse: pics à m/e 670 (M^+), 456, 350, 335, 291, 263, 228, 214, 170, 168, 154, 135, 122 et 108.

Spectre de RMN:

2 t	0,8	6 H	2 CH_3 de 2 chaines éthyle
s	3,75	6 H	2 carbométhoxyles
m	7,1	8 H	8 H aromatiques

b) fraction 2

METHOXY-12 Δ14-VINCAMINE 50 La fraction 2 reprise par le benzène laisse cristalliser 757 mg de méthoxy-12 Δ14-vincamine 50

F 210-211° $(\alpha)_D$ + 96° ($CHCl_3$, c = 1).

Spectre UV: 228 (4,5), 271 (3,87), 286 (3,77) et 293 (3,68).

Spectre de masse: pics à m/e 382 (M^+), 353, 349, 335, 323, 314, 280 et 200.

Spectre de RMN:

t	0,99 (J = 7)	3 H	CH_3 18
2 qd	1,80 et 2,0	2 H	CH_2 19
sy. AB	2,10 et 2,48(J=14)	2 H	CH_2 17
m	3,02	2 H	CH_2 3
s	3,75	3 H	méthoxyle 12
s	3,83	3 H	carbométhoxyle
s	4,02	1 H	H 21
sy. AB	5,48 et 5,76(J=10)	2 H	2 H 14 et 15
2 m	6,6 et 7,05	1 et 2H	H 9 et 10, H 11

Hydrogénation catalytique de 50: METHOXY-12 VINCAMINE 60

345 mg de 50 sont hydrogénés dans les conditions décrites (cf.:17) durée 2 heures.
cristallise dans l'acétone.

F 186° $(\alpha)_D$ + 146° ($CHCl_3$, c = 0,92).

Spectre UV: 227 (4,59), 270 (3,92), 285 (3,79), 293 (3,76).

Spectre de masse: pics à m/e 384 (M^+), 337, 325, 297, 314, 282, 267, 254.

Spectre de RMN:

t	0,90 (J = 7)	3 H	CH_3 18
sy. AB	1,95 et 2,3 (J=14)	2 H	CH_2 17
2 s	3,72 et 3,85	2x3H	méthoxyle et carbométhoxyle
m	6,6 à 7,1	3 H	3 H aromatiques

Déshydratation de 50: APO METHOXY-12 Δ14-VINCAMINE.

La deshydratation est conduite de la même façon que pour 46 et 47 (CF_3 COOH)

Spectre UV: λmax à 225, 263 et 324 M^+ 366

Spectre de RMN:

t	1,05 (J = 7,5)	3 H	CH_3 18
qd	1,82	2 H	CH_2 19
m	3,04	2 H	CH_2 3
2 s	3,79 et 3,81	2x3H	méthoxyle et carbométhoxyle
s	4,15	1 H	H 21
sy. AB	5,44 et 5,49	2 H	2 H 14 et 15
s	5,88	1 H	H 17
m	6,64	1 H	H aromatique 11
m	7,04	2 H	2 H aromatiques 9 et 10

Déplacements induits par Eu $(f.o.d.)_3$

Les résultats pour les différents alcaloïdes sont rassemblés dans les tableaux suivants:

Δ14-VINCAMINE 46

	46=6,2mg Eu = 0 R = 0	46=6,2mg Eu = 5,4mg R = 0,295	46=6,2mg Eu = 10,9mg R = 0,6	extrapolation R = 1	d R=1-R=0
H 9	7,45	7,9	8,30	8,85	1,4
H 10	7,1	7,3	7,45	7,7	0,6
H 11	7,1	7,0	7,0	6,75	-0,35
H 12	7,1	9,9	12,3	15,5	8,4
$CH_2$19	1,65 2,0	2,2	2,6	3,1	1,3
$CH_3$18	1,01	1,08	1,15	1,20	0,2
H 14	5,60	5,9	6,10	6,45	0,85
H 15	5,80	6,0	6,30	6,65	0,85
H 17	2,36	3,7/3,9	?	6,9/7,6	4,6/5,3
CO_2Me	3,87	4,65	5,34	6,35	2,5
H 21	4,1	5,25	6,30	7,8	3,7

EPI-16 Δ14-VINCAMINE 47

47 = 9,4 mg Eu $(f.o.d)_3$ = 0, 5,1 et 10,1 mg (R=0,18 et 0,365)

	R = 0	R = 0,18	R = 0,365	R = 1	d R=1-R=0
H 9	7,45	7,82	8,04	9	1,55
H 10	7,1	7,27	7,38	7,90	0,8
H 11	7,1	6,92	6,87	6,50	-0,6
H 12	7,45	8,20	8,64	10,75	3,3
$CH_2$19	1,45 1,80	1,75 2,2	2,0 2,6	3,0 4,15	1,55 2,35
$CH_3$18	0,93		0,90	0,85	-0,08
$CH_2$3	3,02	3,65		5,7	2,7
H 14	5,46	6,02	6,30	7,8	2,4
H 15	5,24		6,50	8,7	3,5
CO_2Me	3,48	4,17	4,54	6,3	2,8
H 21	3,74	4,44	5,05	7,2	3,45

Δ14-VINCINE 54

54 = 20,3 mg Eu (f.o.d.)$_3$ = 0 15 et 30,5 mg (R = 0,276 et 0,55).					
	R = 0	R = 0,276	R = 0,55	R = 1	d: R=1- R=0
H 9	7,32	7,50	7,64	7,9	0,6
H 10	6,76	6,85	6,96	7,1	0,35
H 12	6,58	7,77	8,71	10,6	4
$CH_2$19	1,60 1,95	2,0 2,4	2,40 2,75	2,9 3,4	1,3 1,45
$CH_3$18	0,99	1,12	1,24	1,50	0,51
$CH_2$3	3,05	3,45	3,75	4,4	1,35
H 14	5,57	5,82	6	6,3	0,65
H 15	5,74				
H 17	2,32	3,05 3,21	3,67 3,93	4,65 5,15	2,3 2,8
O Me	3,77	3,70	3,65	3,5	- 0,3
COOMe	3,85	4,33	4,75	5,40	1,55
H 21	4,05	4,72	5,3	6,35	2,3

EPI-16 VINCINE 59

59 = 20,4 mg Eu (f.o.d.)$_3$ = 0 15,5 et 31 mg (R = 0,28 et 0,6).					
	R = 0	R = 0,28	R = 0,6	R = 1	d:R=1-R=0
H 9	7,31	7,60	7,84	8,3	1
H 10	6,77	6,94	7,1	7,25	0,5
H 12	6,87	7,65	8,28	9,5	2,7
$CH_3$18	0,83	0,85	0,92	1,0	0,17
H 17	1,94 2,58	2,9 3,84	3,5 4,77	5,1 6,6	3,15 4
OMe	3,71	3,63	3,54	3,40	- 0,3
COOMe	3,79	4,55	5,17	6,30	3,5
H 21	3,70	?	5,2	6,75	3

METHOXY-12 Δ14-VINCAMINE 50:
50 = 20,4 mg Eu (f.o.d.)$_3$ = 0 - 15 et 30,5 mg (R = 0,28 et 0,55) se reporter au graphique figurant dans la partie théorique. (page 83)

c) Fractions 3 à 7: Les fractions 3-7 sont reprises par le méthanol à chaud; par refroidissement 4,33 g de Δ14-vincamine 46 cristallisent; un deuxième jet est constitué par un mélange de 46 et de 47.

d) Fraction 8: 518 mg de 46 sont cristallisés dans le benzène.

e) Fraction 9: La composition de cette fraction est complexe; elle est en majorité constituée de produits très polaires. Par dissolution dans le méthanol et repos à basse température, il a été possible d'obtenir 765 mg de l'alcaloïde 53:

VOBTUSINE 53 recristallisée dans le mélange-chlorure de méthylène:
F 302° $(\alpha)_{578}$ - 337° ($CHCl_3$, c = 1,3)

Spectre UV: 225 (4,49), 265 (4,02), 328 (4,19), -ep.à 300 (4,12)

Spectre de masse: pic moléculaire à m/e 718.

identifiée par comparaison avec un échantillon de référence.

****
****

FEUILLES

18,18 g d'alcaloïdes totaux correspondant à 2,3 kg de poudre de feuilles (obtenus par le procédé général décrit pour les écorces de racines) sont chromatographiés sur 30 fois leur poids d'alumine.

Le mélange benzène-CH_2Cl_2 (75-25) élue l'alcaloïde 61 qui cristallise dans le méthanol.

METHOXY-12 VOAPHYLLINE 61

F 149 - 151° $(\alpha)_{578}$+ 61° ($CHCl_3$, c = 1)

Spectre UV: 228 (4,52), 275 (3,75), 292 (3,58).

Spectre de masse: pics à m/e 326 (M^+), 297, 279, 186, 174, 173 163 (M^{++}), 140 (100%), 122.

Spectre de RMN:

t	0,71 (J = 7)	3 H	CH_3 de l'éthyle
s	3,98	3 H	méthoxyle
m	6,5 à 7,0	3 H	3 H aromatiques
s	8,0	1 H	N-H indolique

METHOXY-12 VOAPHYLLINOL A 62a

110 mg de 61 sont dissous dans 100 ml d'éther anhydre et réduits par Al Li H_4 (90 mn de reflux au BM); après refroidissement l'excès d'hydrure est détruit par addition d'éther humide puis d'eau. La solution éthérée est extraite par une solution aqueuse HCl 2%; les phases acides réunies, alcalinisées par NH_4OH sont extraites par du chloroforme. Après lavage des extraits réunis, séchage et distillation à sec on obtient 102 mg de 62a presque pur (traces de 62b) non cristallisé.

Spectre UV: λmax à 228, 275, 291.

Spectre de masse: pics à m/e 328 (M^+ 100%), 299, 281, 187, 174, 173, 158, 140 et 122.

Spectre de RMN:

t	0,88 (J = 7)	3 H	CH_3 de l'éthyle
s	3,90	3 H	méthoxyle
m	6,5 à 7,0	3 H	3 H aromatiques
s	8,13	1 H	N-H indolique

Réaction d'Oppenauer sur 62a : cétones 63 et 64.

101 mg de 62a, 200 mg de fluorénone sèche et 200 mg de terbutylate de potassium fraîchement sublimé sont dissous dans 60 ml de benzène anhydre. Après deux heures de reflux sous azote, le mélange réactionnel est versé sur de la glace et acidifié par HCl normal; la phase acide lavée à l'éther, alcalinisée par NH_4OH, est extraite par l'éther puis par CH_2Cl_2, après distillation il reste un résidu de 78 mg qui est chromatographié sur alumine.

Cétone 63 33 mg éluée au benzène

Spectre UV: 232, 273, 292.

Spectre IR ($CHCl_3$): 1700 cm^{-1}.

Spectre de masse: pics à m/e 326 (M^+), 297, 240, 187, 186, 174, 173, 163, 140, 139, 138 (100%), 124, 110.

Spectre de RMN:

t	0,73 (J = 7)	3 H	CH_3 de l'éthyle.
s	3,97	3 H	méthoxyle
m	6,5 à 7,0	3 H	3 H aromatiques
s	8,03	1 H	N-H indolique

Cétone conjuguée 64 éluée par le mélange benzène éther 90-10

Spectre UV: 232, 273, 292, 332.

Spectre de masse: pics à m/e 324 (M^+), 295, 240, 200, 187, 186, 174, 173, 151, 138 (100%), 123.

Spectre de RMN:

t	0,88 (J = 7,5)	3 H	CH_3 de l'éthyle
s	3,96	3 H	méthoxyle
d	5,13 (J = 8)	1 H	H éthylénique conjugué
m	6,5 à 7,0	4 H	3 H aromatiques et 1 H éthylénique conjugué
s	8,1	1 H	N-H indolique

Réaction de Wolf Kischner modification Huang Minlon sur la cétone 63

METHOXY-QUEBRACHAMINE 65

100 mg de sodium sont dissous dans 5 ml d'éthylène glycol redistillé, on ajoute 32 mg de cétone 63 puis 0,3 ml d'hydrate d'hydrazine à 98%; après 1 heure à 170° on porte 5 heures à reflux, à 200°. Après refroidissement le milieu réactionnel est versé sur de la glace et extrait à plusieurs reprises par l'éther. Les phases éthérées, réunies, lavées quatre fois à l'eau, séchées sur carbonate disodique, sont distillées à sec; le résidu est purifié par chromatographie préparative sur couche mince de silice.

Méthoxy-quebrachamine 65

Spectre UV: 231, 274, 292.

Spectre de masse: pics à m/e 312 (M^+), 297, 283, 240, 229, 187, 174, 173, 156, 138, 125, 124, 110.

$(\alpha)_{578}$ = + 86° ± 15 (dioxanne, c = 0,7)

CRIOPHYLLINE

Eluée au CH_2Cl_2, cristallise dans le méthanol

F 276 - 279° dec. $(\alpha)_{578}$ -176° ($CHCl_3$ c = 1,04).

Spectre UV: 214 (4,26), 228 (e) (4,08), 257 (3,93), 299 (4,06), 327 (4,28).

Spectre IR: (K Br): bandes à 3360, 1680 et 1610 cm^{-1}

Spectre de masse:

(M^+):	646,3528	(c: $C_{40}H_{46}O_4N_4$):	646,3519	83,8%
	617,3481	(c: $C_{39}H_{45}O_3N_4$):	617,3491	82,8%
	550,2940	(c: $C_{34}H_{38}O_3N_4$):	550,2944	54%
	432,2650	(c: $C_{27}H_{34}O_2N_3$):	432,2651	65,9% (M-214)
	336,2071	(c: $C_{21}H_{26}O\ N_3$):	336,2076	100%
	309,1976	(c: $C_{20}H_{25}O\ N_2$):	309,1967	52,8%

Autres pics: m/e 108, 138, 144, 154, 168, 337, 551, 645.

Spectre de RMN:

m (= 2 t)	0,9	6 H	2 CH_3 de deux chaînes éthyle
s 3,70		3 H	carbométhoxyle
m 6,3 à 7,0		7 H	7 H aromatiques

DESCARBOMETHOXYCRIOPHYLLINE:

200 mg de criophylline sont dissous dans 40 ml de potasse éthanolique environ N, reflux 3 h 30. Après neutralisation par HCl le précipité cristallin est essoré, lavé à l'éthanol et éliminé; le filtrat est concentré, dilué à l'eau, alcalinisé par NH_4OH et extrait par l'éther; le résidu (183 mg) est chromatographié sur alumine.

Descarbométhoxycriophylline F 260° $(\alpha)_{578}$-63° ($CHCl_3$, c = 0,74)

Spectre UV: 212 (4,30), 256 (4,03)

Spectre de masse: pics à m/e 588 (M^+), 559, 478, 336, 309, 251, 224, 210, 194, 182, 180, 168, 156, 144, 143, 108.

Spectre de RMN

m (2 t)	0,9	6 H	2 CH_3 de deux chaînes éthyle

disparition du s du $COOCH_3$, m 7 H aromatiques.

Descarbométhoxydihydrocriophylline

42 mg de descarbométhoxycriophylline sont hydrogénés (Pt Adams Et OH, H_2, 2 heures) (cf. 46 → 56); le résidu est soumis à une chromatographie préparative sur couche mince de gel de silice.

Spectre UV: 212, 252, 300.

Spectre de masse: pics à m/e 590 (M^+), 574, 561, 532, 493, 479, 336, 309, 279, 240, 167, 144, 130.

ECORCES DE TIGES.

887 mg d'alcaloïdes totaux obtenus par le procédé général décrit sont chromatographiés sur 35 g. d'alumine.

Le benzène élue successivement:

tabersonine 49, apo Δ14-vincamine 51
tabersonine 49, alcaloïde F
alcaloïde F, voaphylline 48, méthoxy-12 Δ14-vincamine 50

Les solvants plus polaires éluent:

méthoxy-12 Δ14-vincamine 50
Δ14-vincamine 46
épi-16 Δ14-vincamine 47

Les fractions contenant l'alcaloïde F sont réunies et cristallisées dans le méthanol; les eaux mères sont chromatographiées sur couche mince pour isoler une nouvelle quantité d'alcaloïde F (47 mg au total).

Alcaloïde F :

F 161-162° $(\alpha)_{578}$ - 27° ($CHCl_3$, c = 0,85).

Spectre UV: 227 (4,51), 269 (3,96), 281 (3,86), 291 (3,59).

Spectre IR (KBr): bandes à 3500 et 1770 cm^{-1}.

Spectre de RMN ($CDCl_3$):

t	1,13 (J = 7)	3 H	CH_3 d'une chaine éthyle
sy. AB	2,41 et 2,8 (J = 12,5)	2 H	non équivalents d'un CH_2 ?
s	4,06	3 H	carbométhoxyle
s	4,33	1 H	1 H cis quinolisidine ?
dd	4,6 (J = 8, J' = 5,5)	2 H	oléfiniques
d	5,9 (J = 8)		
m	7,0 à 7,5	4 H	4 H aromatiques

analyse centésimale	C 71,31%	H 6,29%	N 8,05%
calculé pour $C_{21}H_{22}O_3N_2$	71,98%	6,33%	8,00%

Spectre de masse: pics à m/e 350 (M^+), 335, 321, 291, 263, 170 (100%).

BIBLIOGRAPHIE

1 A.de JUSSIEU, Gen., 144, (1789).

2 G. KOIDZUMI, The Botanical magazine (Tokyo), 37, 37, (1923).

3 F. MARKGRAF, Botanische Jahrbücher, 61, 164, (1928).

4 M. PICHON, Bull. Mus. Nat. Hist. Nat., Paris, deuxième série, 19, 205, (1947).

5 M. PICHON, Mémoires Mus. Nat. Hist. Nat., Paris, nouvelle série, 27, 153, (1948); id° série B, 1, 1, (I950).

6 P. BOITEAU, L. ALLORGE, T. SEVENET, Adansonia, ser. 2, 12, 99, (1972).

7 A. GUILLAUMIN, Bull. Soc. Bot. Fr., LXXXVIII, 362, (1941).

8 M. PICHON, Bull. Mus. Nat. Hist. Nat., 19, 208, (I947).

9 X. MONTROZIER, Mem. Acad. Lyon, 10; 235, (I947).

10 DANIKER, Vierteljahrsschr. Nat. Ges., Zurich, 78, 386, (1933).

11 N.G. BISSET, Ann. Bogor., 3, 105, (I958).

12 J. LE MEN, M. HAYAT, G. MATHE, J.C. GUILLON, E. CHENU, M. HUMBLOT, Y. MASSON, Rev. Europ. Clin. et Biol., I5, 534, (1970).

13 G. MATHE, M. HAYAT, F. VASSAL, L. SCHWARZENBERG, M. SCHNEIDER, J.R. SCHLUMBERGER, C. JASMIN, C. ROSENFELD, id°, 15, 541, (1970).

14 J. POISSON, C. MIET, Ann. Pharm. Fr., 25, 523, (I967).

15 G.H. SVOBODA, G.A. POORE, M.L. MONTFORT, J. Pharm. Sc., 57, I720, (1968).

16 S. GOODWIN, A.F. SMITH, E.C. HORNING, J. Amer. Chem. Soc., 81, 1903, (1959).

17 F.A. DOY, B.P. MOORE, Aust. J. Chem., 15, 548, (1962).

18 J.W. LODER, Aust. J. Chem., 19, 1947, (1966).

19 E. MACKO, R.F. RAFFAUF, J. Med. Pharm. Chem., 2, 585, (1960).

20 C. KAN FAN, B.C. DAS, P. POTIER, M; SCHMID, Phytochemistry; 9, 1351; (1970).

21 J. BRUNETON, T. SEVENET, A. CAVÉ, Phytochemistry, 11, 3073, (1972).

22 P.J. SCHEUER, J.T.H. METZGER, J. Org. Chem., 26, 3069, (1961).

23 W. JORDAN, P.J. SCHEUER, Tetrahedron, 21, 3731, (1965).

24 B. DOUGLAS, J.L. KIRCKPATRICK, B.P. MOORE, J.A. WEISBACH, Aust. J; Chem., 17, 246, (1964).

25 K.N. KILMINSTER, M. SAINSBURY, B. WEBB, Phytochemistry, 11, 389, (1972).

26 M. SAINSBURY, B. WEBB, Phytochemistry, 11, 2337, (1972).

27 J. BRUNETON, A. CAVÉ, Ann. pharm. fr., 30, 629, (1972).

28 J. BRUNETON, J.L. POUSSET, A. CAVÉ, C.R. Acad. Sci., (C), 273, 442, (1971).

29 J. BRUNETON, A. CAVÉ, Phytochemistry, 11, 846, (1972).

30 J. BRUNETON, A. CAVÉ, Phytochemistry, 11, 2618, (1972).

31 N. PEUBE LOCOU, M. KOCH, M. PLAT, P. POTIER, C. R. Acad. Sci., (C), 273, 905, (1971).

32 N. PEUBE LOCOU, M. KOCH, M; PLAT, P. POTIER, Ann. Pharm. Fr., 30, 775, (1972).

33 N. PEUBE LOCOU, M. KOCH, M. PLAT, P. POTIER, C.R. Acad. Sci., à paraître.

34 N. PEUBE LOCOU, M. KOCH, résultats non publiés.

35 A. BUZAS, H. OSOWIECKI, O. SCHINDLER, C. R. Acad. Sci., 247, 1390, (1958).

36 N. PEUBE LOCOU, M. KOCH, M. PLAT, P. POTIER, Phytochemistry, 11, 2109, (1972).

37 N. PEUBE LOCOU, M. KOCH, M. PLAT, P. POTIER, ANN. Pharm. Fr., à paraître.

38 N. PEUBE LOCOU, M. KOCH, M. PLAT, Phytochemistry, 12, 199, (1973).

39 J.P. COSSON, M. SCHMID, Phytochemistry, 9, 1353, (1970).

40 ELI LILLY, Catalog of ultra violet spectra, Vol 2, (1962).

41 U. RENNER, Experentia, 15, 185, (1959).

42 M.-M. JANOT, R. GOUTAREL, Bull. Soc. Chim. Fr., 588, (1951).

43 M.-M. JANOT, R. GOUTAREL, A. LE HIR, G. TSATSAS, V. PRELOG, Helv. Chim. Acta, 38, 1073, (1955).

44 J. LEVY, G. LEDOUBLE, J. LE MEN, M.-M. JANOT, Bull. Soc. chim. Fr., 1917, (1964).

45 E. WENKERT, N.V. BRINGI, J. Amer. Chem. Soc., 81, 1474, (1959).

46 J.L. DOLBY, S. SAKAI, Tetrahedron, 23, 1, (1967).

47 G.B. MARINI BETTOLO, J. SCHMUTZ, Helv. Chim. Acta, 42, 2146, (1959).

48 H. BUDZIKIEWICZ, C. DJERASSI, D.H. WILLIAMS, Structure elucidation of natural products by mass spectrometry, Vol. 1, Holden Day, San Francisco, (1964).

49 J. SCHMUTZ, F. HUNZIKER, Helv. Chim. Acta, 41, 288, (1958).

50 G. BUCHI, D.W. MAYO, A. HOCHSTEIN, Tetrahedron, 15, 167, (1961).

51 B. GILBERT, A.P. DUARTE, Y. NAKAGAWA, J.A. JOULE, S.E. FLORES, J.A. BRISOLESE, J. CAMPELLO, E.P. CARRAZONI, R.J. OWELLEN, E.C. BLOSEY, K.S. BROWN, C. DJERASSI, Tetrahedron, 21, 1141, (1965).

52 A.R. KATRITZKY, J.M. LAGOWSKY, Chemistry of the heterocyclic N-oxides Academic Press (1971).

53 A.N. FUJIWARA, E.M. ACTON, L. GOODMAN, J. of heterocyclic chemistry, 9, 389, (1969).

54 K. NAKANISCHI, Infrared absorption spectroscopy, Holden Day (1962).

55 M. KOCH, M. PLAT, C. R. Acad. Sci., (C), 273, 753, (1971).

56 B. GILBERT, J.A. BRISOLESE, N. FINCH, W.I. TAYLOR, H. BUDZIKIEWICZ, J.M. WILSON, C. DJERASSI, J. Amer. Chem. Soc., 85, 1523, (1963).

57 J.L. POUSSET, J. POISSON, C. R. Acad. Sci., 259, 597, (1964).

58 M. HESSE, Indolalkaloïd in tabellen, Ed. 1964 et 1968, Springer Verlag, Berlin.

59 N.J. DASTOOR, A.A. GORMAN, M. SCHMID, Helv. Chim. Acta, 50, 213, (1967).

60 G. SPITELLER, M. SPITELLER-FRIEDMANN, Monatsch. Chem., 94, 779,(1963).

61 B. GILBERT, L.D. ANTONACCIO, C. DJERASSI, J. Org. Chem., 27, 4702, (1962).

62 R.B. WOODWARD, G.A. IACOBUCCI, F.A. HOCHSTEIN, J. Amer. Chem. Soc., 81, 4434, (1959).

63 L. PIERRE, Bull. Soc. Linn., Paris, 165, 1310, (1897).

64 M. PICHON, Mem. Mus. Nat. Hist. Nat., 27, (6), 153, (1948).

65 N. HALLE, Adansonia, ser 2, 11, 301, (1971).

66 C. KAN FAN, R. BESSELIEVRE, Ad. CAVÉ, B.C. DAS, P. POTIER, C. R. Acad. Sci., (C), 272, 1431, (1971).

67 M. PLAT, D.D. MANH, J. LE MEN, M.-M. JANOT, H. BUDZIKIEWICZ, J.L. WILSON, L.J. DURHAM, C. DJERASSI, Bull. Soc. Chim. Fr., 1082, (1962).

68 W.F. TRAGER, C.M. LEE, A.H. BECKETT, Tetrahedron, 23, 365, (1967) et références citées.

69 T.A. CRABB, R.F. NEWTON, D. JACKSON, Chem. Rev., 71, 109, (1971).

70 M. USKOKOVIC, H. BRUDERER, C. von PLANTA, T. WILLIAMS, A. BROSSI, J. Amer. Chem. Soc., 86, 3364, (1964).

71 J. MOKRY, I. KOMPIS, Lloydia, 27, 428, (1964).

72 O. STROUF, J. TROJANEK, Coll. Czech. Chem. Comm., 29, 447, (1964).

73 J. BRUNETON, A. BOUQUET, A. CAVÉ, Phytochemistry, à paraître.

74 A. CAVÉ, A. BOUQUET, B.C. DAS, C.R. Acad. Sci., (C), 272, 1367, (1971).

75 T. SEVENET, Thèse Doct. Etat (sciences) Orsay, (1972).

76 J. TROJANEK, O. STROUF, J. HOLUBEK, Z. CEKAN, Tetrahedron letters, 20, 702, (1961).

77 F. PUISIEUX, Thèse Doct. Etat (sciences) Paris (1960).

78 H.K. SCHNOES, A.L. BURLINGAME, K. BIEMANN, Tetrahedron letters, 993, (1962).

79 R. HAMET, C. R. Acad. Sci., 229, 1359, (1949).

80 N. BLOEMBERGEN, E.M. PURCELL, R.V. POUND, Phys. Rev., 73, 699, (1948).

81 C.C. HINCKLEY, J. Amer. Chem. Soc., 91, 5160, (1969).

82 J. BRIGGS, F.A. HART, G.P. MOSS, E.N. RANDALL, Chem. Comm., 364, (1971).

83 C.C. HINCKLEY, M. R. KLOTZ, F. PATIL, J. Amer. Chem. Soc., 93, 2417, (1971).

84a J.K.M. SANDERS, D.H. WILLIAMS, J. Amer. Chem. Soc.,93, 641, (1971).

84b E. DE BOER, H. VAN WILLIGAN, Prog. Nucl. Magn. Resonance Spectrosc., 2, 111, (1967).

85 J.K.M. SANDERS, S.W. HANSON, D.H. WILLIAMS, J. Amer. Chem. Soc.,94, 5325, (1972).

86 F. LEFEVRE, M.L. MARTIN, Organic Magnetic Resonance, 4, 737, (1972) et références citées.

87 J.A. POPLE, N.G. SCHNEIDER, H.J. BERNSTEIN, N.M.R. High resolution New York, Mac Grax Hill, (1959).

88 J.K.M. SANDERS, D.H. WILLIAMS, Chem. Comm., 422, (1970).

89 R.E. RONDEAU, R.E. SIEVERS, J. Amer. Chem. Soc., 93, 1522, (1971).

90 C.C. HINCKLEY, J. Org. Chem., 35, 2834, (1970).

91 P.V. DEMARCO, T.K. HELZEY, R.B. LEWIS, E. WENKERT, J. Amer. Chem. Soc., 92, 5737, (1970).

92 K.G. MORALLEE, E. NIEBOER, F.J.C. ROSSOTI, R.J.P. WILLIAMS, A.V. XAVIER, Chem. Comm., 1132, (1970).

93 D. HORTON, J.K. THOMSON, Chem. Comm., 1389, (1971).

94 J. BRUNETON, Ad. CAVÉ, A. CAVÉ, Tetrahedron, 29, 1131, (1973).

95 M.-M. JANOT, Tetrahedron, 14, 113, (1961).

96 J. GARNIER, M. KOCH, N. KUNESCH, Phytochemistry, 8, 1241, (1969).

97 J. LE MEN, W.I. TAYLOR, Experentia, 508, (1965).

98 M. PLAT, N. KUNESCH, J. POISSON, C. DJERASSI, H. BUDZIKIEWICZ, Bull. Soc. Chim. Fr., 2669. (1967).

99 N. KUNESCH, B.C. DAS, J. POISSON, Bull. Soc. chim. Fr., 2155, (1967).

100 M. PLAT, J. LE MEN, M.-M. JANOT, J.M. WILSON, H. BUDZIKIEWICZ, L.J. DURHAM, Y. NAKAGAWA, C. DJERASSI, Tetrahedron Letters, 7, 271, (1962).

101 J. POISSON, M. PLAT, H. BUDZIKIEWICZ, L.J. DURHAM, C. DJERASSI, Tetrahedron, 22, 1075, (1966).

102 K. BIEMANN, Tetrahedron Letters,n°15,9, (1960).

103 K. BIEMANN, G. SPITELLER, , Tetrahedron Letters,n°9,299, (1961).

104 H.H.A. LINDE, Helv. Chim. Acta, 48, 1822, (1965).

105 N. KUNESCH, Thèse Doct. Etat (sciences) Paris (1968).

106 K. BERNAUER, W. ARNOLD, C. WEISMANN, H. SCHMID, P. KARRER, Helv. Chim. Acta, 43, 717, (1960); J. LEVY, J. LE MEN, M.-M. JANOT, Bull. Soc. chim. Fr., 979, (1960).

107 G. BUCHI, R.E. MANNING, S.A. MONTI, J. Amer. Chem. Soc., 85, 1893, (1963); 86, 4631, (1964).

108 N. NEUSS, M. GORMAN, W. HARGROVE, N.I. CONE, K. BIEMANN, G. BUCHI, R.E. MANNING, J. Amer. Chem. Soc., 1140, (1964).

109 A.A. GORMAN, V. AGWADA, M. HESSE, U. RENNER, H. SCHMID, Helv. Chim. Acta, 49, 2072, (1966).

110 C. DJERASSI, L.D. ANTONNACIO, H. BUDZIKIEWICZ, J.M. WILSON, Tetrahedron letters, 1001, (1962).

111 B.K.MOZA, J. TROJANEK, A.K. BOSE, K.G. DAS, P. FUNKE, Tetrahedron letters, 2561, (1964); id°, Lloydia, 27, 416, (1964).

112 E. WENKERT, D.W. KOCHRAN, E.W. HEYAMAN, F.M. SCHELL, N. NEUSS, P. POTIER, C. KAN, M. PLAT, H. MEHRI, J. POISSON, N. KUNESCH, Y. ROLLAND, J. Amer. Chem. Soc., à paraitre.

113 J.B. STOTHERS, Carbon 13 NMR spectroscopy, Academic Press, New York 1972

114 C. KAN FAN, H.P. HUSSON, B.C. DAS, P. POTIER, résultats non publiés.

115 J. LEVY, P. MAUPERIN, M.D. de MAINDREVILLE, J. LE MEN, Tetrahedron letters, 1003, (1971).

116 R.G. PARKER, J.D. ROBERTS, J. Org. Chem., 35, 996, (1970).

117 J.P. KUTNEY, J.F. BECK, V.R. NELSON, R.S. SOOD, J. Amer. Chem., 93, 255, (1971).

118 E. WENKERT, B. WICKBERG, J. Amer. Chem. Soc., 87, 1580, (1965).

119 G. HUGEL, J. LEVY, J. LE MEN, communication 158, Journées d'Orsay 1971.

120 C. KAN FAN, P. POTIER, résultats non publiés.

121 G.C. LEVY, G.L. NELSON, ^{13}C NMR for organic chemists, WILEY and sons, Chichester, (1972).

122 A. AHOND, H.P. HUSSON, C. KAN FAN, G. LUKACS, P. POTIER, résultats non publiés.

★ ★